

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

Rosana Taschetto Vey

TESE DE DOUTORADO

**BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO NA CULTURA DA
SOJA**

Santa Maria, RS, Brasil
2023

Rosana Taschetto Vey

**BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO NA CULTURA DA
SOJA**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Agronomia.**

Orientador: Prof. Dr. Thomas Newton Martin

Santa Maria, RS, Brasil
2023

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Vey, Rosana Taschetto
Bactérias Solubilizadoras de Fosfato na Cultura da
Soja / Rosana Taschetto Vey.- 2023.
91 p.; 30 cm

Orientador: Thomas Newton Martin
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, RS, 2023

1. Fósforo 2. Pseudomonas sp. 3. Bacillus subtilis 4.
Solubilização I. Newton Martin, Thomas II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, ROSANA TASCHETTO VEY, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Rosana Taschetto Vey

BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO NA CULTURA DA SOJA

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Agronomia**.

Aprovado em 29 de março de 2023:



Thomas Newton Martin, Dr.
(Presidente / Orientador)



Paulo Sergio Pavinato, Dr. (ESALQ)

gov.br

Documento assinado digitalmente

RODRIGO JOSEMAR SEMINOTI JACQUES
Data: 02/05/2023 11:22:23-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Rodrigo Josemar Seminoti Jacques, Dr. (UFSM)

gov.br

Documento assinado digitalmente

FREDERICO COSTA BEBER VIEIRA
Data: 02/05/2023 14:06:59-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Frederico Costa Beber Vieira, Dr. (UNIPAMPA)



Marcos da Silva Brum, Dr. (Biosphera)

Santa Maria, RS, Brasil
2023

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)

DEDICO

Dedico este trabalho aos meus amados pais Enio S. Vey (*in memorian*) e Leonida A. Taschetto Vey, sendo que sempre foram meus incentivadores nos estudos e se não fossem seus esforços, certamente não chegaria aqui. As minhas queridas e amadas irmãs pelo apoio durante a minha caminhada. Ao meu noivo Albert R. Marin Viaro, pelo total apoio e incentivo na realização de minhas atividades. Dedico a todos que de alguma forma me ajudaram durante este período.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos primeiramente a Deus, por me proporcionar saúde para que eu pudesse realizar o trabalho e a pesquisa durante este período do doutorado.

A minha amada mãe Leonida Taschetto pelo apoio de sempre, obrigada por me inspirar a ser cada dia mais forte, para que eu pudesse superar todas as dificuldades e desafios.

Ao meu inesquecível pai Enio Vey (*in memoriam*) pelo incentivo de sempre para que eu trabalhasse na área em que mais gostava, certamente este título também é seu.

As minhas irmãs Juliana e Luciana, amigas e companheiras de todas as horas, obrigada por estarem sempre ao meu lado e me ajudarem em todos os momentos. Ao meu querido sobrinho Valentim, por trazer tanta alegria para a família, o que me animou ainda mais na execução dos trabalhos.

Ao meu noivo e companheiro Albert, pessoa que me tranquilizou em vários momentos, me ajudou na execução de algumas atividades trabalhosas. Obrigada pelo amor e carinho de sempre, por estar ao meu lado me incentivando e crescendo comigo.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pela oportunidade de cursar no programa de pós-graduação em Agronomia de forma pública e de qualidade.

À Capes, por incentivar as pesquisas e custear projetos que visam a sustentabilidade, assim como minha tese.

À Universidade de Sevilha na Espanha, pelo fornecimento de cepas para realização dos experimentos.

Ao meu orientador e amigo, professor Thomas Martin. Obrigada pelo apoio e por acreditar no meu trabalho durante estes três anos e meio. Agradeço pelos ensinamentos e pela oportunidade que tive de trabalhar junto ao grupo de pesquisa Coxilha.

Aos colegas e amigos do grupo de Pesquisa de Grandes Culturas de Coxilha, pela ajuda na execução de todos os experimentos, pela amizade e parceria, certamente continuaremos em contato na nossa vida pessoal e profissional.

Enfim, agradeço às demais pessoas que de alguma forma colaboraram com a execução desta pesquisa, meu muito obrigada.

RESUMO

BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO NA CULTURA DA SOJA

AUTORA: Rosana Taschetto Vey

ORIENTADOR: Thomas Newton Martin

O fósforo (P) é um nutriente essencial às plantas, sendo um dos principais elementos para a produção de alimentos, porém, parte do total adicionado ao solo se torna indisponível às plantas. A adição de bactérias solubilizadoras de fosfato tem sido apontada como uma forma viável de aumentar a disponibilização do P adsorvido no solo às plantas e promover o crescimento vegetal. No entanto, o real potencial depende de quais espécies de microrganismos estão envolvidas e da interação com fatores de solo e clima dos locais, e a investigação científica é essencial para o avanço efetivo no estado da arte sobre o assunto. Objetivou-se com essa pesquisa avaliar os benefícios de bactérias promotoras de crescimento na cultura da soja, e ainda, a capacidade de solubilização de fosfato no solo pela ação destas bactérias. No primeiro capítulo, foram realizados três experimentos no campo, utilizando bactérias promotoras de crescimento sob diferentes doses de P no solo. No segundo capítulo, avaliou-se a capacidade destes microrganismos em realizar a solubilização de fosfatos em laboratório, e ainda, realizou-se um experimento em hidroponia para quantificar a absorção de P pelas folhas de soja. Conclui-se com esta pesquisa que a utilização da bactéria pertencente ao gênero *Pseudomonas* sp. (BAC 71) promoveu maior concentração de P nas raízes e na parte aérea na cultura da soja, além de maior comprimento, área e volume de raiz. Esta bactéria pode ser utilizada em pesquisas futuras como uma possível bactéria solubilizadora de fosfatos no solo além da promoção de crescimento. A bactéria *Bacillus subtilis* promoveu maior massa seca e maior concentração de fósforo nas folhas de soja, além disso, esta bactéria também apresentou índice médio de solubilização de fosfato, sendo esta, considerada uma alternativa para melhor aproveitamento deste nutriente no solo.

Palavras-chave: Fósforo, *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis*, solubilização.

ABSTRACT

PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA IN SOYBEAN CULTURE

AUTHOR: Rosana Taschetto Vey

ADVISOR: Thomas Newton Martin

Phosphorus (P) is an essential nutrient for plants, being one of the main elements for food production, however, part of the total added to the soil becomes unavailable to plants. The addition of phosphate-solubilizing bacteria has been identified as a viable way to increase the availability of adsorbed P in the soil to plants and promote plant growth. However, the real potential depends on which species of microorganisms are involved and the interaction with local soil and climate factors, and scientific investigation is essential for the effective advance in the state of the art on the subject. The objective of this research was to evaluate the benefits of growth-promoting bacteria in the soybean crop, and also, the ability of phosphate solubilization in the soil by the action of these bacteria. In the first chapter, three experiments were carried out in the field, using growth-promoting bacteria under different doses of P in the soil. In the second chapter, the ability of these microorganisms to carry out the solubilization of phosphates in the laboratory was evaluated, and also, an experiment was carried out in hydroponics to quantify the absorption of P by soybean leaves. It is concluded with this research that the use of bacteria belonging to the genus *Pseudomonas* sp. (BAC 71) promoted a higher concentration of P in the roots and in the aerial part of the soybean crop, in addition to greater length, area and root volume. This bacterium can be used in future research as a possible phosphate solubilizing bacterium in the soil in addition to promoting growth. The bacterium *Bacillus subtilis* promoted higher dry mass and higher concentration of phosphorus in soybean leaves, in addition, this bacterium also showed an average phosphate solubilization index, which is considered an alternative for better use of this nutrient in the soil.

Keywords: Phosphorus, *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis*, solubilization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema representativo da relação entre pH do solo, fixação de P em óxidos de Fe e Al e precipitação de P com formas químicas contendo Ca. Fonte: Adaptado de Price (2006).	16
Figura 2: Formas de fósforo no sistema solo-planta; interdependências e equilíbrios. Fonte: NOVAIS et al. (2007).....	19
Figura 3: Precipitação (mm) e temperatura média (°C) no período da emergência da cultura da soja (17/11/2019) à colheita (15/03/2020), no primeiro experimento (INMET, 2022)	26
Figura 4: Precipitação (mm) e temperatura média (°C), no período da emergência da cultura da soja (23/11/2020) à colheita (22/03/2021), no segundo experimento (INMET, 2022)	29
Figura 5: Precipitação (mm) e temperatura média (°C), no período da emergência da cultura da soja (30/11/2021) à colheita (29/03/2022), no terceiro experimento (INMET, 2022).	31
Figura 6: Número de nódulos por planta (NNP) (a) e massa seca de nódulos (MSN) (b), nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no primeiro experimento.....	33
Figura 7: Massa de mil grãos (MMG) (a), produtividade de grãos (PG) (b), nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no primeiro experimento.	35
Figura 8: Proteína nos grãos (PB) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no primeiro experimento.....	36
Figura 9: Concentração de fósforo no solo na camada 0-10 cm (mg dm ³) nos diferentes tratamentos com doses de fósforo no momento da colheita no primeiro experimento.	37
Figura 10: Número de nódulos por planta (NNP) (a) e massa seca de nódulos (MSN) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.	39
Figura 11: Massa de mil grãos (MMG) (a) e produtividade de grãos (PG) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.	40
Figura 12: Teor de fósforo no solo na camada 0-10 cm nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.....	44
Figura 13: Massa seca de parte aérea (MSPA) (a) e massa seca de raiz (MSRA) (b) nas	

diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.	46
Figura 14. Número de nódulos por planta (NNP) (a) e massa seca de nódulos (MSN) (b), nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.	49
Figura 15. Massa de mil grãos (MMG) (a) e produtividade de grãos (PG) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.	50
Figura 16. Teor de fósforo na parte aérea (PPA) (a) e teor de fósforo na raiz (PRA) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.	51
Figura 17: Teor de fósforo na parte aérea (g kg ⁻¹), nas diferentes doses de NH ₄ H ₂ PO ₄ (0; 23,01; 57,52 e 138,04 mg L ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias em hidroponia. Onde: T1- <i>B. japonicum</i> , T2- <i>B. japonicum</i> + <i>P. fluorescens</i> , T3- <i>B. japonicum</i> + <i>B. megaterium</i> e <i>B. subtilis</i> e T4- <i>B. japonicum</i> + <i>B. subtilis</i>	76
Figura 18: Massa seca de raiz (gramas), nas diferentes doses de NH ₄ H ₂ PO ₄ (0; 23,01; 57,52 e 138,04 mg L ⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias em hidroponia.....	77
Figura 19: Bactérias biosolubilizadoras de fósforo em meio de cultivo formando halo de solubilização aos 17 dias.	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição dos tratamentos do primeiro experimento.....	27
Tabela 2: Distribuição dos tratamentos do terceiro experimento.	30
Tabela 3: Resumo da análise de variância com os quadrados médios das variáveis número de nódulos por planta (NNP), massa seca de nódulos (MSN), massa de mil grãos (MMG), produtividade de grãos (PG) e teor de proteína nos grãos (PB) do experimento 1.	32
Tabela 4: Resumo da análise de variância, representado pelos quadros médios das variáveis resposta do experimento com soja, em função dos tratamentos com bactérias e as doses de fósforo na semeadura do segundo experimento.	38
Tabela 5: Resumo da análise de variância, representado pelos quadros médios das variáveis resposta do experimento com soja, em função dos tratamentos com bactérias e as doses de fósforo na semeadura para as variáveis no terceiro experimento.	48
Tabela 6: Tratamentos do experimento em hidroponia, utilizando os produtos comerciais. ...	71
Tabela 7: Concentração em mg L ⁻¹ dos macronutrientes na solução nutritiva em sistema hidropônico.....	72
Tabela 8: Concentração em mg L ⁻¹ dos micronutrientes na solução estoque em sistema hidropônico.....	72
Tabela 9: Índice de unidades formadoras de colônias <i>in vitro</i> entre as bactérias solubilizadoras de fosfato 12 horas após inoculação, contendo as bactérias <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> + <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> e BAC 71 em meio de cultura....	74
Tabela 10: Índice de solubilização de fosfato (IS= Diâmetro do halo (mm) / Diâmetro da colônia (mm)) por isolados de <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus subtilis/Bacillus megaterium</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> e BAC 71, em duas datas de avaliação.....	78

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ALIMENTO PARA O MUNDO	14
2.2 FÓSFORO NA PRODUÇÃO DE SOJA	15
2.3 MICRORGANISMOS DE USO AGRÍCOLA	17
3 CAPÍTULO 1 - BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA CULTURA DA SOJA	22
3.1 INTRODUÇÃO.....	23
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
3.3.1 Primeiro experimento.....	31
3.3.2 Segundo experimento.....	38
3.4 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS.....	55
4 CAPÍTULO 2 – CAPACIDADE DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO POR BACTÉRIAS NA CULTURA DA SOJA.....	69
4.1 INTRODUÇÃO.....	70
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	71
4.2.1 Casa de vegetação	71
4.2.2 Seleção de bactérias solubilizadoras de fosfatos em meios de cultivo	73
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
4.4 CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS.....	82
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	91

1 INTRODUÇÃO

Existem aproximadamente 8 bilhões de pessoas no mundo, sendo que este número deve atingir 9,7 bilhões até 2050 conforme dados apresentados pela Organização das Nações Unidas (ONU, 2022). Acompanhando este crescimento, a fome no mundo também tem um crescimento exponencial e, dessa forma, são necessárias alternativas para o aumento na produção de alimentos. Novas áreas agrícolas já estão sendo limitadas, com isso, é necessário aumentar a produtividade em áreas já consolidadas.

São vários os nutrientes essenciais para a produção agrícola, entre estes o fósforo (P). O fósforo é um macronutriente de grande importância, não podendo ser substituído por nenhum outro. As reservas de fósforo no planeta são finitas, e o seu aproveitamento na agricultura é limitado e, grande parte deste elemento está sendo “estocado” no solo, tornando este um “depósito” de fósforo (TEIXEIRA et al., 2014).

Entre as alternativas para aumento da produção agrícola, está a utilização de microrganismos que promovem o crescimento de plantas, melhoram a tolerância aos estresses bióticos e abióticos, controlam pragas e doenças, além de outros benefícios. Bactérias promotoras de crescimento vêm sendo pesquisadas por estimular as plantas a produzirem mais raízes através da produção de fitormônios, fixação biológica de nitrogênio, e ainda, por aumentar a disponibilidade de outros nutrientes no solo. Alguns gêneros de bactérias são considerados solubilizadores de fosfatos, devido à capacidade de desorver fósforo que esteja fortemente adsorvido no solo tornando este disponível para as plantas.

Devido às limitações atuais e futuras das fontes de fósforo, bem como a baixa eficiência de uso pelas plantas devido à tendência de o P ser fortemente retido no solo, além do elevado custo do fertilizante fosfatado mineral, são necessárias alternativas para disponibilizar às plantas o fósforo fixado nos minerais do solo. Uma alternativa seria a utilização de bactérias solubilizadoras de fosfato, necessitando pesquisas que possam esclarecer os mecanismos e as ações das bactérias sobre a planta e os fosfatos do solo. Com isso, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de bactérias promotoras de crescimento na solubilização de fosfato no solo, além da relação destas com a nodulação e produtividade na cultura da soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ALIMENTO PARA O MUNDO

De acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU, 2022), a população mundial deve crescer em 2 bilhões de pessoas nos próximos 30 anos, passando dos atuais 8 bilhões de indivíduos para 9,7 bilhões em 2050. Para satisfazer as necessidades calóricas, energéticas e proteicas da população, a produção de alimentos deverá aumentar e conseqüentemente haverá uma maior demanda de fertilizantes (XU et al., 2018).

Estima-se que na década de 2050 a demanda de fósforo duplique em relação à atual demanda, sendo que em torno de 90% do fósforo extraído atualmente é destinado a agricultura. Algumas pesquisas indicam um pico na produção de fertilizantes fosfatados nos próximos 30 anos e há tendência de esgotamento das rochas fosfáticas nos próximos 50 a 100 anos (COOPER et al., 2011; SMIT et al., 2009; LIANG et al., 2019; VACCARI, 2009). Outros estudos preveem que este esgotamento poderá demorar séculos, mas sugerem que, antes do esgotamento, ocorrerá um longo período cuja oferta e qualidade do produto sejam parcas (CALVO; VALERO & VALERO, 2017).

As rochas fosfáticas são a principal matéria-prima para produção de fertilizante fosfatado e, além desta fonte ser esgotável, há ainda problemas com a baixa qualidade de algumas fontes, o que eleva ainda mais o custo de exploração destas rochas e conseqüentemente, dos fertilizantes (FANG et al., 2020; DESMIDT et al., 2015).

Uma alternativa para o aumento da produção de alimentos é por meio da expansão das áreas agrícolas, porém estas estão cada vez mais limitadas. Enquanto outra forma seria pelo aumento da produtividade por área. Segundo o Anuário Estatístico da FAO (FAO, 2013), a disponibilidade de áreas agrícolas está centrada em poucos países, cerca de 90% das terras para a expansão agrícola estão na América Latina e países do continente africano. Além disso, países como China e EUA não têm mais novas áreas para a exploração agrícola.

2.2 FÓSFORO NA PRODUÇÃO DE SOJA

O fósforo (P) é um dos principais elementos para garantir o aumento da produtividade, tendo importância na fotossíntese, respiração, alongamento celular, integrante de ácidos nucleicos, fosfolipídios, transporte de energia, entre outras funções na planta (MENDES et al., 2014; REIS, 2016; BALZERGUE et al., 2017; HAM et al., 2018; WEIL & BRADY, 2017).

O P é o componente principal da molécula adenosina trifosfato (ATP), que fornece energia para manter as células vivas e ativas. Não existe nenhum outro elemento conhecido que possa substituí-lo (SHOLZ et al., 2014). O ATP é um nucleotídeo formado por uma adenosina associada a três radicais fosfatos conectados em cadeia, é responsável pelo transporte primário de energia química nas células. O fósforo também é constituinte de membranas celulares na forma de fosfolipídios (PANTANO et al., 2016).

De acordo com Bissani et al. (2008), o P total da maioria dos solos brasileiros varia entre 0,03 e 0,34% (300 e 3400 mg/dm³ de P), sendo que, na sua quase totalidade está na forma sólida, constituindo compostos de P orgânico e inorgânico. O P da solução do solo é constituído principalmente de P inorgânico e sua concentração é geralmente menor que 0,1 mg L⁻¹. Este baixo teor de P no solo é justificado devido às formações da maioria dos solos brasileiros ter origem do basalto (BISSANI et al., 2008). O P é um dos nutrientes mais exigido pela soja, na qual, extrai do solo aproximadamente 10 kg de fósforo para produzir 1.000 kg de grãos (SFREDO, 2008).

O fósforo é encontrado no solo nas formas de P-orgânico (Po) e P-inorgânico (Pi), sendo que o Po corresponde de 5 a 85% do fósforo total dos solos. As principais formas de Po encontrados nos solos, são fosfatos de inositol (10 a 80% do Po), fosfolipídios (0,5 a 7%) e ácidos nucleicos (aproximadamente 3% do Po) (GATIBONI et al., 2013; NOVAIS & SMITH, 1999; PEREIRA et al., 2020; RAIJ, 2011; SANTOS et al., 2011; TAIZ et al., 2016; PEREIRA et al., 2021). O Po é originado de resíduos da biomassa microbiana e de derivados da sua decomposição, e principalmente de resíduos vegetais e animais.

O Pi é representado pelo fósforo de minerais primários, fósforo precipitado (ferro (Fe), alumínio (Al) e cálcio (Ca)), fósforo adsorvido aos coloides do solo (argilas silicatadas e oxihidróxidos de Fe e Al) e ainda, o fósforo na solução, sendo que este possui baixa concentração (em torno 0,1 mg L⁻¹ de P) devido à baixa solubilidade dos compostos fosfatados e alta capacidade de adsorção de fosfato. Estes minerais primários possuem uma

contribuição em solos menos intemperizados, porém, nos solos brasileiros, predominam o P adsorvido e precipitado, sendo Latossolos e Argissolos em grande parte (PEREIRA et al., 2020; RAIJ, 2011; PEREIRA et al., 2021).

Os minerais primários fosfatados de rochas são representados principalmente por apatitas e, em menores proporções, strengita, variscita e fluorapatita. O P_i secundário, composto por fosfatos de ferro, alumínio e fosfatos de cálcio, possui liberação lenta no solo e é influenciada por diversos fatores principalmente pelo pH (ARAI, 2007; DEVAU et al., 2009).

De acordo com Reis (2016), o fósforo no solo pode ser chamado de P-lábil, estando este disponível na solução do solo, ou P-não lábil quando o P está indisponível, podendo neste caso estar adsorvido aos coloides do solo, fixado nos minerais primários e secundários ou ainda, imobilizados na matéria orgânica ou na microbiota do solo.

Como apresentado na figura 1, em condições de solo ácido, os fosfatos são adsorvidos em óxidos e hidróxidos de Fe e Al como por exemplo as gibbsita e goetita e, em solos alcalinos, os fosfatos são precipitados em cálcio (GUSTAFSSON et al., 2012).

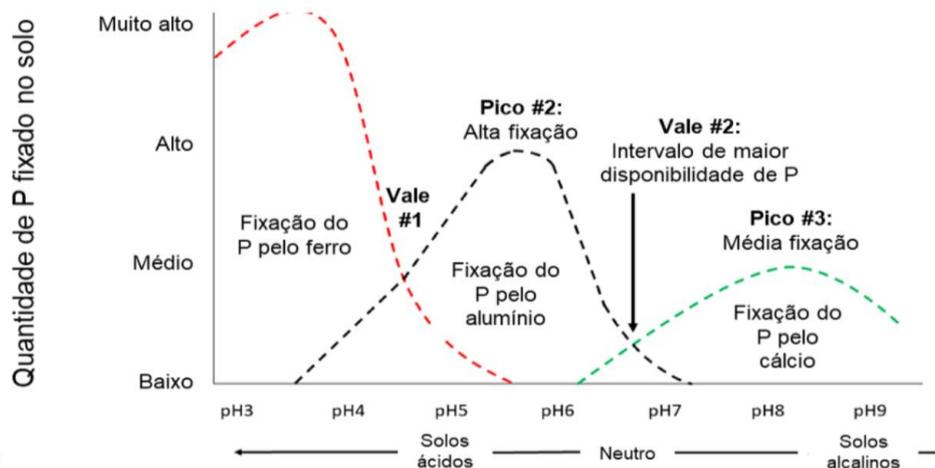


Figura 1: Esquema representativo da relação entre pH do solo, fixação de P em óxidos de Fe e Al e precipitação de P com formas químicas contendo Ca. Fonte: Adaptado de Price (2006).

Devido a alguns fatores adversos para a liberação do P disponível, são fornecidos grande quantidade de fertilizantes fosfatados em função da sua imobilização no solo, que

pode ser por fixação ou adsorção de fósforo. Na busca de obter elevadas produtividades, há grande quantidade de fertilizantes sendo aplicados nos solos contudo o custo do elemento fósforo é um dos mais elevados da agricultura (ROSA et al., 2016). Ainda, parte deste é absorvido e extraído pelas plantas e parte é convertido em complexos insolúveis no solo que ficam indisponíveis, além dos problemas ambientais pelo excesso de P como contaminação de águas e eutrofização (VASSILEV & VASSILEVA, 2003; CHANEY, 2012), sendo assim, de todo fertilizante aplicado, apenas 5 a 25% realmente está sendo aproveitado pelas plantas (SCHNUG & HANEKLAUS, 2016).

O Brasil é o sexto maior produtor mundial de concentrado de rocha fosfática a partir do qual são produzidos o ácido fosfórico que por sua vez atende à preparação de fertilizantes, dentre outros produtos (PANTANO et al., 2016). Os países que detém em conjunto, aproximadamente 85% das reservas de rochas fosfáticas do mundo são Marrocos, Estados Unidos, Jordânia, África do Sul e China, sendo que Marrocos possui 73% das rochas sedimentares (fosforitos) (PANTANO et al., 2016; JASINSKI, 2019). O consumo mundial de P, contido em ácido fosfórico, fertilizantes e outros usos, foi projetado para aumentar para 50,5 milhões de toneladas em 2022, contra 47,0 milhões de toneladas em 2018. África, Índia e América do Sul representam cerca de 75% do crescimento projetado (US GEOLOGICAL SURVEY, 2019).

Considerando os últimos anos, os preços dos principais fertilizantes fosfatados e potássicos utilizados na cultura da soja registraram os patamares mais elevados em termos nominais, elevando consideravelmente o custo de produção (ARGUS, 2021).

2.3 MICRORGANISMOS DE USO AGRÍCOLA

A utilização de microrganismos promotores de crescimento de plantas, têm sido uma alternativa mais sustentável para a agricultura (RORIZ et al., 2020). Pesquisas têm sido realizadas por diversos autores, utilizando microrganismos benéficos que estimulam o crescimento de plantas, além de maior massa seca de raízes e número de vagens na cultura da soja, também, ocorre aumento de produtividade (SCHAEFER et al., 2019; LIMA et al., 2022; SILVA et al., 2022; MEERT et al., 2020; ALOO et al., 2019).

As bactérias promotoras de crescimento (BPC) podem atuar de diversas formas, podendo estas realizar a fixação biológica de nitrogênio e produzir fitormônios que promovem o crescimento de plantas (PURI; PADDA; CHANWAY, 2020; PUENTE et al., 2019; MENDONÇA et al., 2020; NAIK et al., 2019). BPC podem estimular a proteção de plantas contra patógenos (VERMA; WHITE, 2018; NAIK et al., 2019), aumentar a disponibilização de nutrientes no solo através do processo de decomposição e mineralização da matéria orgânica e pela solubilização de fosfatos (ROTARU; RISNOVEANU, 2019; OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2020; RAMAKRISHNA et al., 2019). No geral essas descobertas contribuem para uma melhor compreensão das interações de bactérias benéficas com plantas e, fornecem novas informações sobre o efeito a longo prazo de BPC no desenvolvimento de plantas.

A utilização de fertilizantes fosfatados, além de elevar o custo de produção, quando em excesso, podem causar impactos ambientais. A agricultura atual, busca a utilização de métodos mais sustentáveis que podem substituir algumas formas de manejo (POMPEU et al., 2018). A solubilização de fosfatos não biodisponíveis do solo por diferentes microrganismos é uma capacidade natural que, por suas características e vantagens, pode ser explorada como uma tecnologia alternativa ou subsidiária da fertilização tradicional, no contexto da agricultura sustentável (PATIÑO-TORRES et al., 2014; WANG et al., 2015; PRABHU et al., 2019).

Os microrganismos solubilizadores de fosfato são aqueles capazes de se multiplicar e colonizar a rizosfera da planta, durante o processo de solubilização é iniciada a produção de ácidos orgânicos. Estes ácidos irão atuar no solo que está junto à raiz, realizando a solubilização do fósforo que está retido ao cálcio, ferro e alumínio, tornando o elemento (P) disponível para as plantas (PAIVA et al., 2020). Bactérias podem atuar na mineralização do fósforo presente na matéria orgânica do solo (fitato), disponibilizando maior quantidade deste elemento para as culturas.

Bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF), podem ser livres no solo ou viver em relações simbióticas com algumas plantas. Estas bactérias são capazes de se adaptar, colonizar e persistir na rizosfera e ainda, favorecer seu desenvolvimento por meio da solubilização de fosfato inorgânico de diferentes compostos como fosfato tricálcico e rochas fosfáticas (PATIÑO, 2010).

Os microrganismos têm participação ativa nas transformações do P no solo, influenciando sua disponibilidade para as plantas e seu fluxo. Segundo Novais et al. (2007) (Figura 2) e Reis (2016), o fósforo no solo pode ser encontrado de diversas formas, podendo estar disponíveis (solução do solo) P-lábil, ou indisponíveis (imobilizado na matéria orgânica ou na microbiota do solo, adsorvidos aos coloides, ou ainda, fixados aos minerais) como P-não lábil.

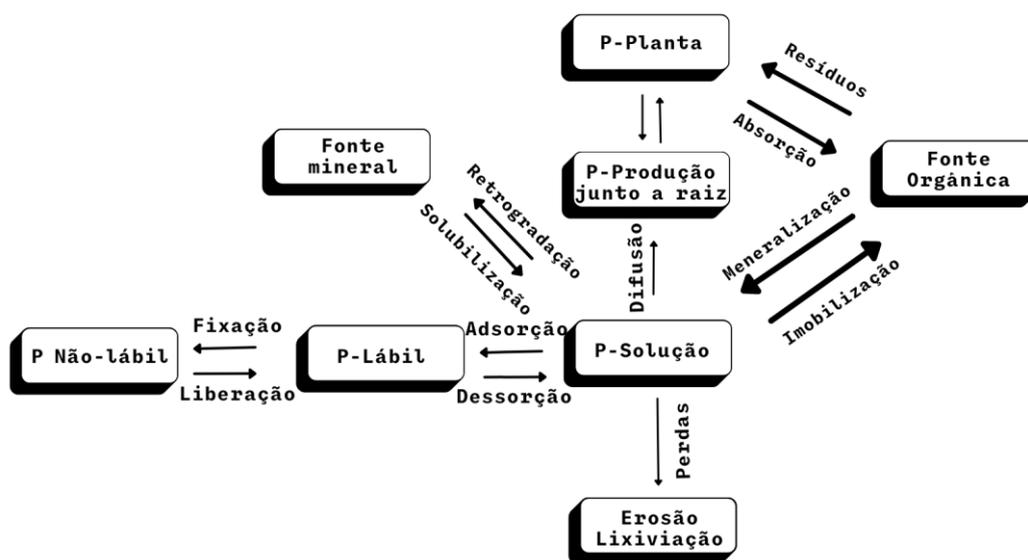


Figura 2: Formas de fósforo no sistema solo-planta; interdependências e equilíbrios. Fonte: NOVAIS et al. (2007).

A maioria dos microrganismos pode solubilizar complexos de fosfato de cálcio e apenas alguns podem solubilizar fosfato de alumínio ou ferro (GUANG-CAN et al., 2008). Dentro das BSF estão os gêneros *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* e *Rhizobium*, entre outros (AGUADO-SANTACRUZ, 2012; PAREDES & ESPINOSA, 2010; KAUR; REDDY, 2015). Uma forma de solubilização é por meio de sideróforos, os quais são moléculas orgânicas com baixa massa molecular, capazes de formar ligações estáveis com o ferro (Fe) existente no solo. Desta forma, o Fe é solubilizado e disponibilizado para as plantas e ainda, ocorre inibição de fitopatógenos no solo, sendo que o Fe está sendo imobilizado quimicamente pela molécula (RADZKI et al., 2013).

Pesquisas têm sido realizadas, com a utilização de bactérias com capacidade de solubilizar fosfatos, podendo aumentar o teor de P disponível no solo, maior massa fresca, comprimento e altura de plantas (TANG et al., 2020; LINU et al., 2019; ATTARZADEH et al., 2019). Pesquisadores utilizaram BSF em culturas de trigo e milho, o que resultou em maior crescimento, maior rendimento e absorção de P pelas plantas (O'CALLAGHAN et al., 2022).

Buono e Ulla (2016), estudaram bactérias para avaliar os efeitos benéficos nas culturas de tabaco e pimenta. *Pseudomonas* sp. e *B. amiloliquefaciens* aumentaram a massa seca em pimenta, enquanto no tabaco isso foi alcançado com *B. amyloliquefaciens*. Por sua vez, *Pseudomonas* sp. estimulou o comprimento das raízes e o conteúdo foliar de P em ambas as culturas. A utilização de *Bacillus megaterium* tem-se demonstrando como um potencial fixador de nitrogênio por alguns autores (YOUSUF et al., 2017), além disso, pesquisas indicam sua eficiência para inibir a penetração e desenvolvimento de nematoides do cisto da soja (*Heterodera glycines*) favorecendo a expressão de genes de defesa na cultura da soja (ZHOU et al., 2017). A utilização de *B. megaterium* também favoreceu o crescimento de plantas de soja sob condições de estresse salino (KHAN et al., 2019).

A utilização de microrganismos na cultura da soja já é conhecida há muitos anos, principalmente pela utilização de *Bradyrhizobium* sp. que realizam o processo de fixação biológica de nitrogênio, e mais recentemente pela coinoculação, utilização de *Bradyrhizobium* sp. e *Azospirillum brasilense*, sendo estas bactérias responsáveis pela demanda de nitrogênio e promoção de crescimento dos pelos radiculares, respectivamente, na cultura da soja (HUNGRIA et al., 2007; HUNGRIA, 2013; HUNGRIA; NOGUEIRA, 2019).

A soja é uma das culturas oleaginosas mais consumidas e cultivadas no mundo, sendo os Estados Unidos e Brasil os principais produtores (MENGISTU et al., 2018; USDA, 2020). O Brasil produz 151,419 milhões de toneladas, com uma produtividade média de 3.479 kg ha⁻¹ (CONAB, 2023). O desafio para a cultura da soja é aumentar a produtividade, sem que ocorra aumento de novas áreas agrícolas, para isso, são necessárias alternativas para melhor aproveitamento dos recursos disponíveis e, aumentando a produção mundial.

Desta forma, são necessários avanços nas pesquisas com a utilização de microrganismos na cultura da soja, sendo que, a utilização de bactérias solubilizadoras de fosfato precisam ser pesquisadas mais especificamente para esta cultura, visto que, a soja teve grande expansão nos últimos anos, possuindo grande importância econômica para o mundo.

BSF são estudadas como uma alternativa para melhorar o aproveitamento do fósforo já aplicado nos solos agrícolas, visto que, suas fontes são esgotáveis, sendo necessárias pesquisas visando a possibilidade de redução no uso de fertilizantes fosfatados, e com isso, reduzir custos de produção.

3 CAPÍTULO 1 - BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA CULTURA DA SOJA

Resumo: Microrganismos promotores de crescimento são conhecidos pelas suas diversas funções, seja pelo aumento do sistema radicular, maior massa seca de parte aérea, disponibilização de nutrientes no solo e conseqüentemente maior produtividade de grãos, além de outros diversos benefícios para as culturas agrícolas. Esta pesquisa teve como objetivo, avaliar os benefícios da utilização de bactérias promotoras de crescimento e solubilizadoras de fosfato na cultura da soja. Foram realizados três experimentos de campo em três safras consecutivas, utilizando bactérias consideradas solubilizadoras de fosfato. Nos tratamentos realizados foram utilizados os microrganismos: *Bradyrhizobium japonicum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* e dois novos isolados do gênero *Pseudomonas* spp. (Bac 71 e Bac 125), combinados a três doses de P. Como resultado dos três experimentos realizados nas safras 2019, 2020 e 2021, conclui-se que o tratamento utilizando a BAC 71 (com *Bradyrhizobium japonicum* ou coinoculação) promoveu maior concentração de P nas raízes e na parte aérea na cultura da soja, além de maior comprimento, área a e volume de raiz, resultando em maior produtividade. Com isso, pode-se realizar pesquisas futuras com a BAC 71 em outras condições de solo e doses de P, sendo esta uma possível bactéria solubilizadora de fosfatos no solo.

Palavras-chave: Microrganismos, solubilizadoras de fosfato, *Bradyrhizobium japonicum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*.

3.1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine Max* (L.) Merr.) é uma das culturas de maior importância econômica, sendo cultivada 43,5 milhões de hectares no Brasil, obtendo uma produção de 151,4 milhões de toneladas (CONAB, 2023). Entre os principais nutrientes essenciais para satisfazer a necessidade durante o ciclo de cultivo da soja, está o fósforo. O fósforo (P) é um elemento responsável por várias funções nas plantas, como fonte de energia, transdução de sinais e na fotossíntese, além disso, este nutriente está presente em todas as células vivas, como proteínas quinases, ácidos nucleicos, ATP (adenosina trifosfato) e lipídios das membranas (BARRA et al., 2019).

Atualmente, vêm sendo utilizado grande quantidade de fertilizantes fosfatados nas áreas agrícolas, visto que os solos brasileiros possuem baixa concentração de P disponível. Estima-se que cerca de 70% do P aplicado via fertilizantes minerais ou orgânicos ficam acumulados no solo em forma pouco acessíveis para as plantas (PAVINATO et al., 2020; SCHNUG & HANEKLAUS, 2016). A maior parte do P, torna-se adsorvido pelos óxidos e hidróxidos de alumínio (Al) e ferro (Fe) abundantes em solos altamente intemperizados, ficando o elemento indisponível (SILVA et al., 2018).

Os fertilizantes fosfatados apresentam elevado custo na sua utilização, sendo um importante componente nos custos de produção na lavoura de soja, e com isso, são necessárias alternativas mais eficientes para aumentar a disponibilidade de P nos solos agrícolas.

A principal forma de absorção do fósforo pelas plantas, ocorre por meio das raízes via células epidérmicas e pelos radiculares e, alguns fatores como o diâmetro e comprimento dos pelos poderão interferir neste processo (JORHI et al., 2015; KAISER et al., 2015; VAN DE WIEL et al., 2017).

Microrganismos promotores de crescimento são capazes de melhorar o crescimento e desenvolvimento de plantas (ARRUDA et al., 2013; GLICK, 2012, 2014; SHABABAMOL et al., 2018; SPOLAOR et al., 2016), aumentando o volume de raízes e pelos radiculares (CHIBEBA et al., 2015), e desta forma, melhorando a eficiência em absorção de água e nutrientes e conseqüentemente, aumentando a produtividade e rendimento das culturas (GALINDO et al., 2018; ARMENDARIZ et al., 2019; FUKAMI et al., 2018).

Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPC), podem agir por meio da produção de hormônios de crescimento, fixação biológica de nitrogênio (FBN) e aumento na disponibilização de nutrientes no solo (ARAÚJO, 2008). Bactérias são capazes de reduzir do efeito nocivo do estresse salino, produzir metabólitos secundários com efeitos antibióticos, antifúngicos e inseticidas. Além disso, podem promover a indução de defesa dos vegetais resultando em melhor crescimento e desenvolvimento das plantas e conseqüentemente maior sanidade e produtividade (VERMA et al., 2019; UMESHA et al., 2018; YADAV et al., 2020; VERMA et al., 2019; RIBEIRO et al., 2018).

Entre os gêneros de BPC mais estudados, estão *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* e *Erwinia* (GLICK, 2015). O gênero *Pseudomonas* e *Bacillus*, têm sido muito estudados para a promoção de crescimento em diversas culturas agrícolas.

Além de microrganismos promotores de crescimento de plantas, bactérias solubilizadoras de fosfatos (BSF), também têm sido pesquisadas por alguns autores como uma alternativa de promover maior atividade química e biológica do solo (ZHU et al., 2018). Nas culturas do trigo e milho, a utilização de BSF resultou em maior crescimento das plantas, maior rendimento e absorção de fósforo pelas plantas (O'CALLAGHAN et al., 2022). Pesquisadores relatam ainda que BSF ou seus metabólitos, podem diminuir a necessidade de fertilizantes fosfatados (DODD; HARPLEY, 2015).

Para a cultura da soja, são necessárias pesquisas relacionando o efeito de bactérias promotoras de crescimento e, mais especificamente com BSF. Com isso, o objetivo desta pesquisa foi avaliar os benefícios da utilização de bactérias promotoras de crescimento e solubilizadoras de fosfato na cultura da soja.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três experimentos de campo em três safras consecutivas. O primeiro experimento foi realizado na safra 2019/2020, na área experimental da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), situada no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul (RS), a 29° 72' de latitude sul, 53° 73' de longitude oeste e 116 metros de altitude.

O solo da área é classificado como Alisol de acordo com o sistema internacional de classificação de solos (WRB, 2015). Realizou-se a amostragem de solo para análise química na profundidade de 0-10 cm, apresentando pH 4,1; CTC efetiva 4,1; índice SMP 4,5; matéria orgânica 1,9% (m/v), argila 21,0% (m/v); P-Mehlich 36,1 mg/dm³ (muito alto); CTC pH7 26,3 cmol_cdm³; K 104,0 mg/dm³; Ca 1,1cmol_cdm³; Mg 0,5cmol_cdm³; Al 2,2cmol_cdm³. O clima da região, conforme a classificação de Koppen é do tipo Cfa, subtropical sem estação seca e com verão quente (ALVARES et al., 2013).

O fornecimento de potássio foi realizado de acordo com as recomendações do Manual de Calagem e Adubação para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFSRS/SC, 2016), por meio de aplicação em cobertura com as plantas apresentando três trifólios, com expectativa de produtividade de quatro toneladas por hectare (ha), o fósforo foi aplicado em diferentes doses no sulco de semeadura. Os demais tratos culturais, controle de doenças, pragas e insetos, foram realizados conforme as Indicações Técnicas para a Cultura da Soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2018/2019 e 2019/2020 (CARAFFA et al., 2018).

Em relação a presença de microrganismos na área, esta já vêm sendo inoculada por quatro anos com *Bradyrhizobium japonicum*, desta forma, existe uma população inicial já estabelecida no local na concentração de 1,0x10³ UFC/g de solo.

A cultivar utilizada foi a NS5959 IPRO por ser a mais cultivada na região, sendo a densidade utilizada conforme a recomendação para este material, a época para semeadura é definida pelo zoneamento agrícola de risco climático para a cultura de soja no Estado do Rio Grande do Sul, ano-safra 2019/2020 (MAPA, 2019). As condições de temperatura e precipitação durante o ciclo da cultura estão apresentadas na figura 3.

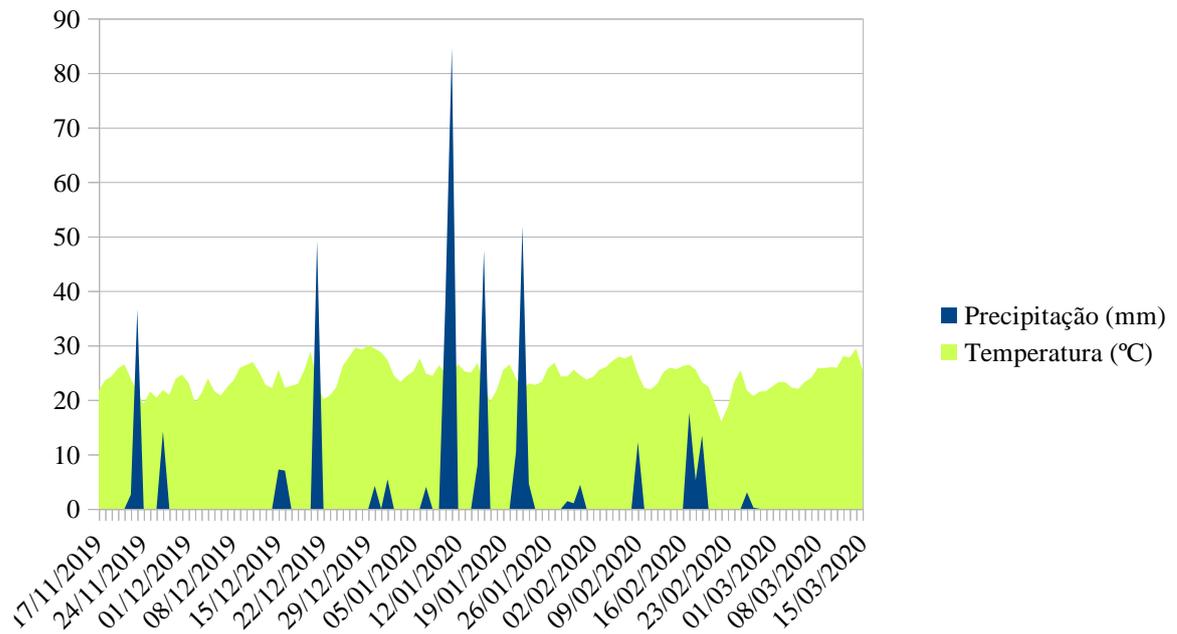


Figura 3: Precipitação (mm) e temperatura média (°C) no período da emergência da cultura da soja (17/11/2019) à colheita (15/03/2020), no primeiro experimento (INMET, 2022)

As bactérias utilizadas estão descritas na tabela 1 com as doses de recomendação. As bactérias utilizadas foram: Bioinsumo 1-*Pseudomonas fluorescens* (Cepa CCTB03), Bioinsumo 2-*Bacillus megaterium* (Cepa BRM 119) e *Bacillus subtilis* (Cepa BRM 2084), Bioinsumo 3-*Bacillus subtilis* (Cepa CCTB04), ambos na concentração de $1,0 \times 10^9$ UFC/mL de produto, sendo recomendada a dose de 100 mL de cada microrganismo para cada 50 kg de sementes.

Tabela 1: Distribuição dos tratamentos do primeiro experimento.

Fator A (Microrganismos)	Fator D (Doses de P)
1-Testemunha (Sem microrganismos)	0 kg ha ⁻¹
2-Coinoculação**	60 kg ha ⁻¹ *
3-Brady*** + <i>Pseudomonas fluorescens</i>	120 kg ha ⁻¹
4-Brady + <i>Bacillus subtilis</i>	
5-Brady + <i>Bacillus megaterium</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	
6-Coinoculação + <i>Pseudomonas fluorescens</i>	
7-Coinoculação + <i>Bacillus subtilis</i>	
8-Coinoculação + <i>Bacillus megaterium</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	
9-Coinoculação + <i>Pseudomonas fluorescens</i> + <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus megaterium/Bacillus subtilis</i>	

*Fósforo foi fornecido via sulco no momento da semeadura na forma de superfosfato triplo (SFT).

**Coinoculação (*Bradyrhizobium japonicum*+*Azospirillum brasilense*) na dose de 300 mL e 100 mL respectivamente, para cada 50 kg de sementes.

***Brady (*Bradyrhizobium japonicum*) na dose de 300 mL para cada 50 kg de semente.

Em relação ao nitrogênio, a fixação biológica foi estimulada com a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* na concentração de 2×10^9 UFC/mL de produto nos devidos tratamentos, o qual foi utilizado com a coinoculação (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense*) via semente na dose de 100 mL para cada 50 kg de sementes para ambos.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com quatro repetições, em que os tratamentos foram distribuídos segundo um modelo bifatorial (9 x 3) constituído pelo fator A (microrganismos) e Fator D (doses de fósforo) (Tabela 1). Cada unidade experimental foi constituída de 7,75 m de comprimento por 2,25 m de largura, com cinco fileiras espaçadas 0,45 m, totalizando 17,4 m² de área total por parcela. Foram colhidas as três fileiras centrais em 5,0 m de comprimento, totalizando 6,75 m² de área útil de colheita.

As variáveis analisadas no primeiro experimento foram números de nódulos por planta (NNP, planta⁻¹), sendo avaliada no estágio fenológico R2 (floração plena: maioria dos racemos com flores abertas) conforme Fehr e Caviness (1977). Foi realizada a coleta aleatória de quatro plantas por unidade experimental, as raízes foram lavadas para contagem dos nódulos. Após a contagem, os nódulos foram lavados e levados à estufa de circulação de ar forçada a 60° C até atingir massa constante, então determinou-se a massa seca de nódulos por planta (MSN, g planta⁻¹) em balança com precisão de 0,001 g.

A produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹) foi avaliada por meio da colheita das plantas com uma motossigadeira, posteriormente as amostras foram trilhadas, limpas e pesadas, aferindo o teor de umidade das mesmas, corrigindo para 13% (base seca). Determinou-se a massa de mil grãos (MMG, g) por meio da pesagem de 1000 grãos por amostra. As amostras de sementes de cada tratamento foram enviadas para a União de Ensino do Sudoeste do Paraná (UNISEP) para avaliação do teor de proteína dos grãos por meio da espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS).

O teor de fósforo do solo foi quantificado antes da semeadura e após a colheita, sendo realizada a coleta de cinco subamostras por parcela de forma aleatória na profundidade de 0-10 cm, fazendo a mistura dessas e retirando uma amostra final. A quantificação foi realizada pelo método de extração do “P disponível”, conforme Manual de Adubação e Calagem para os estados do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) que utiliza o extrator Mehlich 1 (M-1) como o método oficial. Para quantificação de fósforo, as amostras foram encaminhadas ao laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal de Santa Maria para realização destas análises.

No segundo experimento (safra 2020/2021), foram utilizados os mesmos tratamentos do primeiro experimento (safra 2019/2020), e além destes, foram acrescentadas mais duas cepas provenientes do banco de cepas do Laboratório de Microbiologia da Universidade de Sevilha-Espanha, são elas: Bac 71 e Bac 125, sendo que estes isolados pertencem ao gênero *Pseudomonas* spp. e foram utilizados nesta pesquisa como possíveis solubilizadoras de fosfato.

Os tratamentos com as bactérias foram realizados via tratamento de sementes no dia da semeadura. A cultivar utilizada foi a NS5959 IPRO, seguindo a mesma metodologia utilizada no experimento safra 2019/2020, bem como, foram avaliadas as mesmas variáveis da safra anterior. No segundo experimento, também se avaliou as mesmas variáveis do primeiro, realizou-se ainda a massa seca de raiz (MSRA) e de parte aérea (MSPA). Estas foram realizadas com a coleta de quatro plantas por parcela no estágio de desenvolvimento R2 (plena floração), onde, as raízes foram destacadas da planta, lavadas e colocadas para secagem em estufa à 60° C para determinação da massa seca. As mesmas plantas as quais foram destacadas as raízes, utilizou-se a parte aérea destas para secagem em estufa à 60° C para determinação da massa seca. Tanto no primeiro experimento quanto no segundo experimento, quantificou-se o teor de fósforo do solo após a colheita (Figura 9 e 12).

As condições de temperatura e precipitação durante o ciclo da cultura estão apresentadas na figura 4.

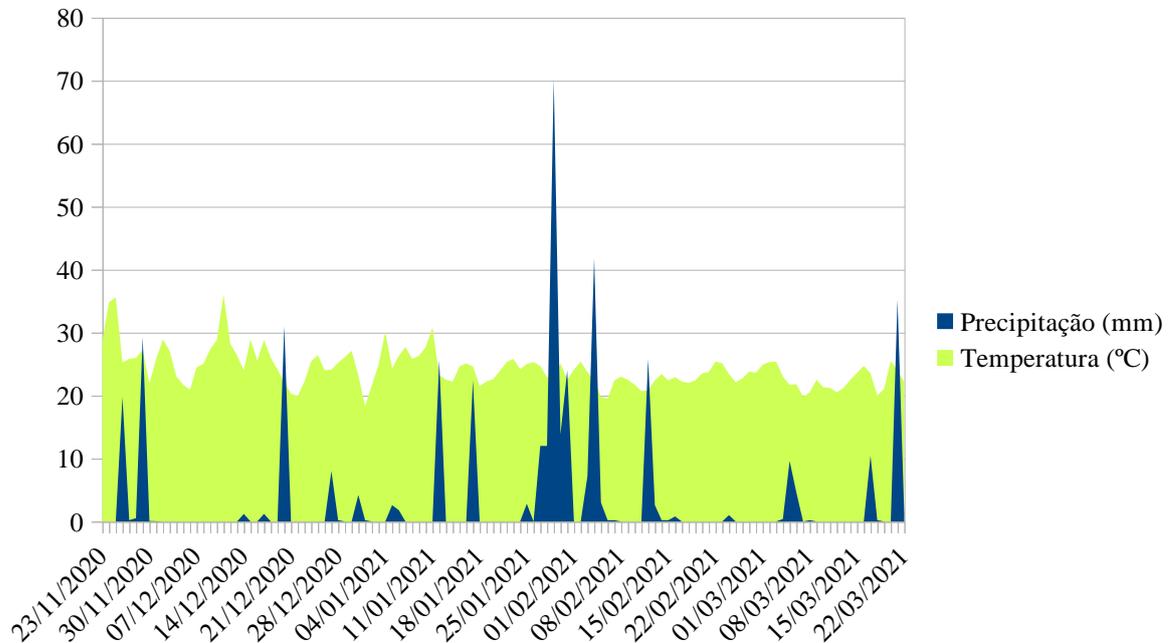


Figura 4: Precipitação (mm) e temperatura média (°C), no período da emergência da cultura da soja (23/11/2020) à colheita (22/03/2021), no segundo experimento (INMET, 2022)

No terceiro experimento (safra 2021/2022), seguiu-se o mesmo local dos experimentos anteriores. Os tratamentos foram realizados via tratamento de sementes no dia da semeadura. A cultivar utilizada foi a NS5959 IPRO, seguindo a mesma metodologia utilizada nos experimentos anteriores. Utilizou-se os tratamentos que apresentaram melhores respostas no campo em relação as variáveis analisadas no primeiro e segundo experimento.

Tabela 2: Distribuição dos tratamentos do terceiro experimento.

Fator A (Microrganismos)	Fator D (Doses de P)
1-Coinoculação**	0 kg ha ⁻¹
2-Coinoculação + <i>Bacillus megaterium</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	60 kg ha ⁻¹ *
3-Coinoculação + <i>Bacillus subtilis</i>	120 kg ha ⁻¹
4-Coinoculação + <i>Pseudomonas fluorescens</i>	
5-Coinoculação + <i>Bac 71</i>	

*Fósforo foi fornecido via sulco no momento da semeadura na forma de superfosfato triplo (SFT).

**Coinoculação (*Bradyrhizobium japonicum*+*Azospirillum brasilense*) na dose de 300 mL e 100 mL respectivamente, para cada 50 kg de sementes.

OBS: As demais bactérias, utilizou-se dose de 100 mL para cada 50 kg de sementes.

No terceiro experimento, foram analisadas as mesmas variáveis do primeiro experimento e ainda, a concentração de fósforo nas raízes e no tecido foliar. Estas foram realizadas com a coleta de quatro plantas por parcela no estágio de desenvolvimento R2 (plena floração), onde as raízes foram destacadas da planta, lavadas e colocadas para secagem em estufa à 60° C até a estabilização da massa seca. As folhas destas plantas foram destacadas para realização de análise da concentração de fósforo no tecido foliar. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e encaminhadas ao laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal de Santa Maria para realização destas análises. As condições de temperatura e precipitação durante o ciclo da cultura estão apresentadas na figura 5.

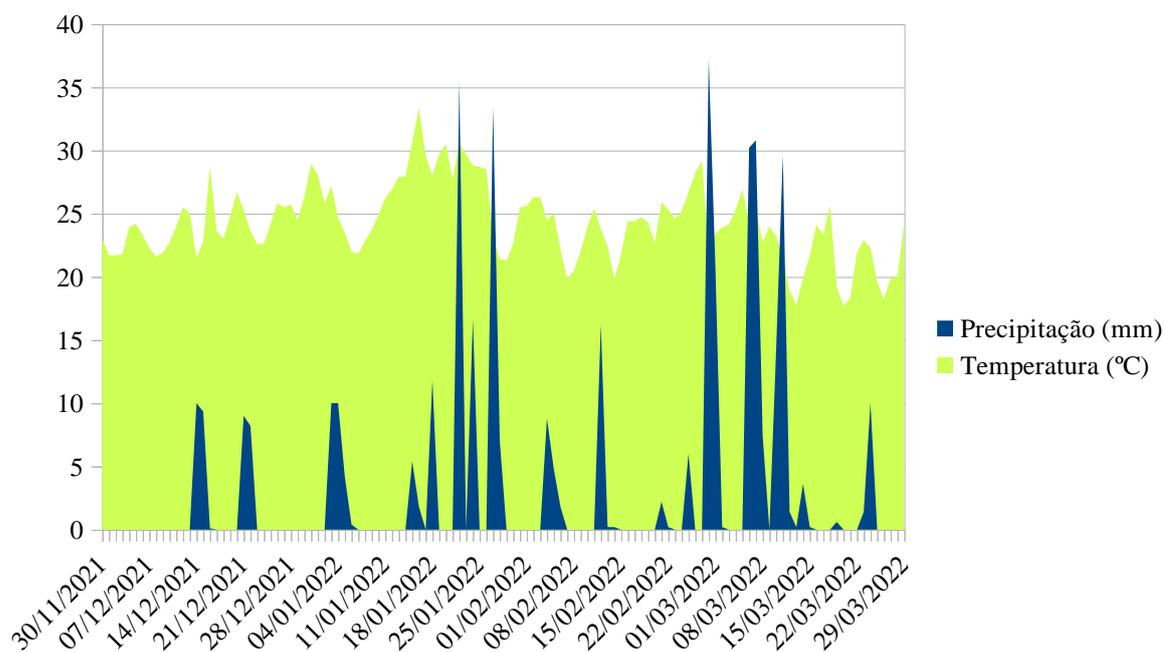


Figura 5: Precipitação (mm) e temperatura média (°C), no período da emergência da cultura da soja (30/11/2021) à colheita (29/03/2022), no terceiro experimento (INMET, 2022).

Os dados foram submetidos ao atendimento das pressuposições do modelo matemático (STEEL et al., 1997), posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando significativos, realizou-se análise de regressão para as doses de P, e teste de comparação de médias pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade para as inoculações, observando as interações. As análises foram realizadas com o auxílio do software estatístico Sisvar® versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Primeiro experimento

Os resultados obtidos no primeiro experimento estão apresentados na tabela 3, onde percebe-se que houve interação entre tratamentos e doses em quatro das cinco variáveis analisadas. Com isso, verifica-se que o comportamento de uma variável, interfere na resposta da outra, não sendo necessária avaliá-las de forma isolada.

Tabela 3: Resumo da análise de variância com os quadrados médios das variáveis número de nódulos por planta (NNP), massa seca de nódulos (MSN), massa de mil grãos (MMG), produtividade de grãos (PG) e teor de proteína nos grãos (PB) do experimento 1.

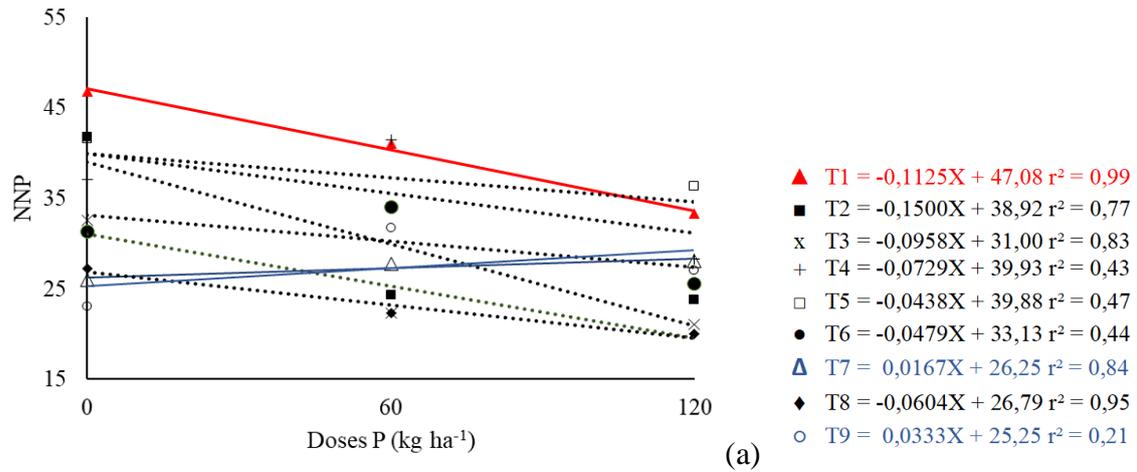
FV	GL	NNP	MSN (g)	MMG (g)	PG (kg ha ⁻¹)	PB (g 100g ⁻¹)
Bloco	3	88,404*	0,0019*	27,341 ^{ns}	300007,07*	0,6279 ^{ns}
Tratamento	8	405,937*	0,0043*	32,951*	194092,86*	2,1798 ^{ns}
Doses	2	457,194*	0,0009 ^{ns}	196,654*	3496205,28*	1,3407 ^{ns}
Tratamento x Doses	16	94,829*	0,0042*	36,853*	178722,79*	1,0161 ^{ns}
Erro	78	22,647	0,0006	11,813	53346,13	1,1084
Média geral		30,694	0,11	152,128	3406,75	33,59
CV (%)		15,50	21,27	2,26	6,78	3,13

*Significativo pelo teste F á 5% de probabilidade de erro, respectivamente; ^{ns} não significativo; fonte de variação (FV); graus de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV).

Para número de nódulos por planta (Figura 6a), o tratamento sem bactérias (T1) apresentou menor número de nódulos com o aumento das doses de fósforo no solo. Porém, apresentou o maior número de nódulos sem o uso de P. Ao contrário dos tratamentos com a presença de bactérias, que em sua maioria aumentaram o NNP com o aumento das doses de SFT, sendo que os microrganismos realizam o processo de mineralização aumentando a disponibilidade de nutrientes no solo e desta forma podem ter favorecido a nodulação.

São vários os fatores que interferem no processo de nodulação, entre eles a adubação da cultura, características edafoclimáticas e a microbiota do solo (CAMPO; HUNGRIA, 2000; MELCHIORRE et al., 2010; PEREIRA et al., 2013).

Os tratamentos coinoculação mais *B. subtilis* (T7) e coinoculação junto a todos os outros microrganismos (T9), apresentaram maior número de nódulos por planta conforme ocorreu o aumento das doses de P. Bactérias do gênero *Bacillus* sp., são consideradas promotoras de crescimento, sendo que, o aumento de nódulos por meio da inoculação com o gênero *Bacillus*, foi identificado também por Korir et al. (2017), onde, na cultura do feijão, foram avaliados os efeitos da utilização de *Rhizobium* e *B. megaterium* em um solo com baixo teor de P e, os autores verificaram que a utilização destas bactérias aumentou a nodulação em relação à inoculação apenas com *Rhizobium*.



Legenda

- T1 ▲ Sem bactérias
- T2 ■ Co-inoculação
- T3 x *Pseudomonas fluorescens*
- T4 + *Bacillus subtilis*
- T5 □ *B. subtilis/B. megaterium*
- T6 ● Co-inoc + *Pseudomonas fluorescens*
- T7 ▲ Co-inoc + *B. subtilis*
- T8 ◆ Co-inoc + *B. subtilis/B. megaterium*
- T9 ○ Co-inoc + *P. fluorescens* + *B. subtilis* + *B. subtilis/B. megaterium*

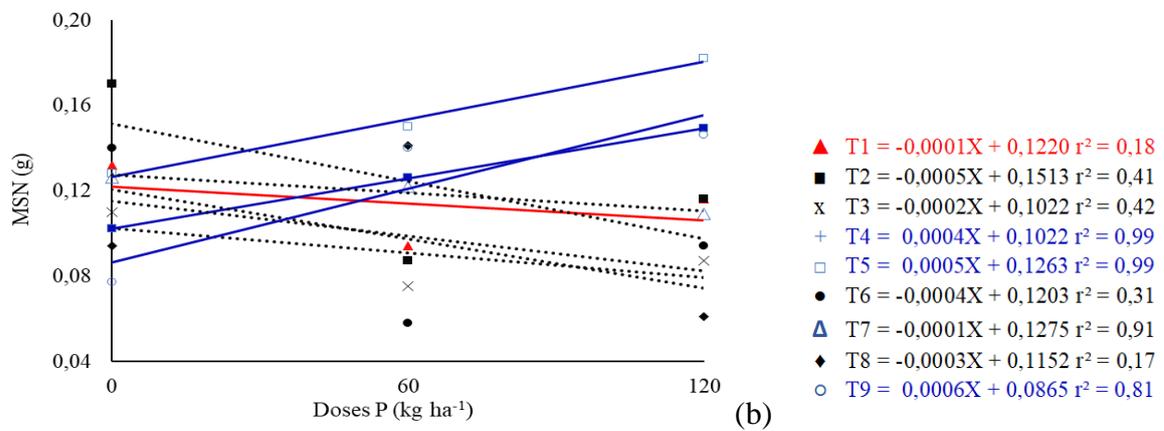


Figura 6: Número de nódulos por planta (NNP) (a) e massa seca de nódulos (MSN) (b), nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no primeiro experimento.

Quando se avalia a massa seca de nódulos (Figura 6b), os tratamentos utilizando *Bacillus subtilis* (T4), *Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium* (T5) e coinoculação junto aos demais microrganismos (T9), responderam em maior massa seca de nódulos quando se aplicou fosfato.

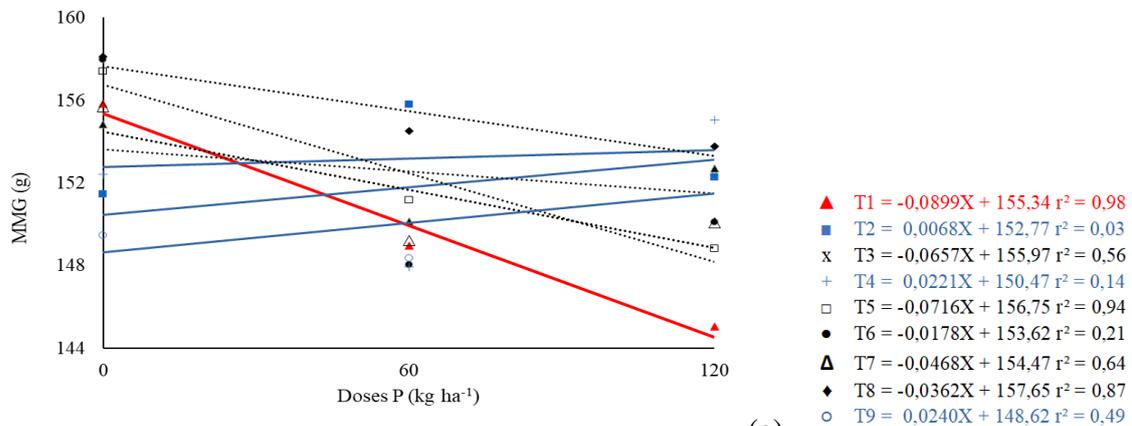
Pesquisas têm demonstrado uma relação direta da massa seca de nódulos e os componentes de produtividade na cultura da soja (ARGAW, 2014; MARTINS et al., 2022). Além disso, existem resultados mostrando que a baixa disponibilidade de fósforo no solo, resulta em um declínio no crescimento e desenvolvimento dos nódulos e na atividade da nitrogenase (CHEN et al., 2019; CHEN et al., 2011; XUE et al., 2018; QIN et al., 2012; LI et al., 2015; NAST et al., 2017), isso poderia justificar a resposta do maior número de nódulos por planta e maior massa seca de nódulos quando aumenta-se a adubação fosfatada no solo em alguns dos tratamentos.

Considerando a massa de mil grãos (Figura 7a), os resultados se relacionam com os dados de NNP, MSN e PG, onde, também houve redução nas respostas das variáveis quando se aumentou as doses de fósforo nos tratamentos testemunha (T1), *Pseudomonas fluorescens* (T3), coinoculação + *P. fluorescens* (T6) e coinoculação + *B. subtilis* e *B. megaterium* (T8). O maior número e massa de nódulos por planta, resulta em maior crescimento e desenvolvimento. A presença de nitrogênio (N) nas plantas favorece o índice de área foliar, produção de gemas vegetativas, teor de proteína e qualidade de grãos (BONFIM-SILVA et al., 2013). Desta forma, plantas com maior número de nódulos estão mais nutridas em N e conseqüentemente, os grãos terão maior teor de proteína e resultando com isso, maior massa de mil grãos.

A produtividade de grãos (PG) diminuiu com o aumento das doses de fertilizante fosfatado, provavelmente seja porque o teor de P disponível já estava muito alta. Com a estiagem, (Figura 7b), a adição de mais P fez com que a PG diminuísse porque o excesso exacerbou o efeito de falta de água.

Durante todo o ciclo da cultura, as temperaturas mais elevadas foram registradas no estágio de florescimento pleno e também no enchimento de grãos (Figura 3). Pesquisas têm apresentado uma grande variação nos resultados utilizando microrganismos em experimentos de campo, são vários os fatores que interferem, e além da temperatura, também a cultivar utilizada, o tipo de solo, entre outros (CASSÁN e DIAZ-ZORITA, 2016; BARDGETT e CARUSO, 2020). A temperatura é um dos principais fatores que interferem na produção de

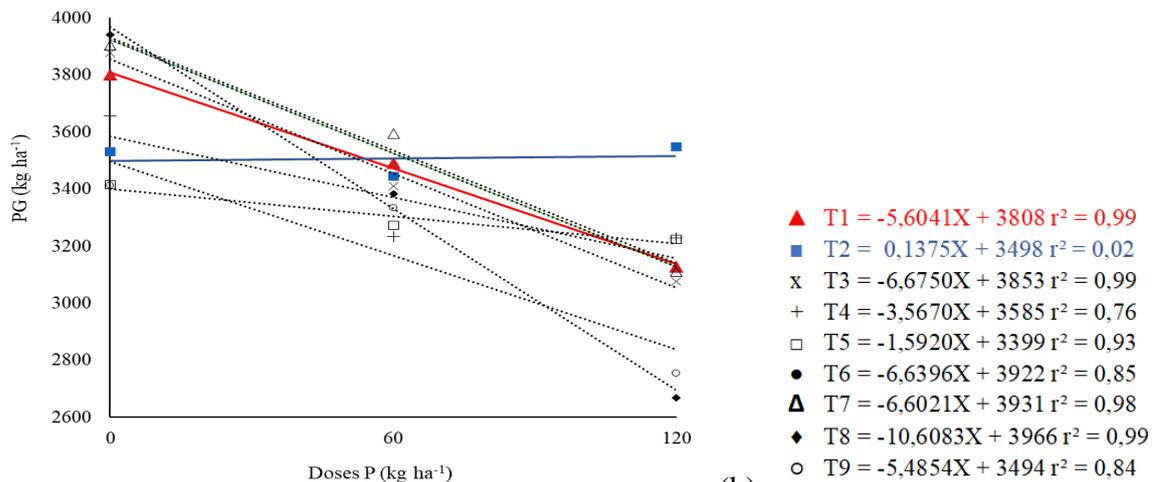
enzimas pelas bactérias que degradam lipídios, sendo desta forma, realizada a ciclagem de nutrientes (DORNELAS et al., 2017).



(a)

Legenda

- T1 ▲ Sem bactérias
 T2 ■ Co-inoculação
 T3 x *Pseudomonas fluorescens*
 T4 + *Bacillus subtilis*
 T5 □ *B. subtilis/B. megaterium*
 T6 ● Co-inoc + *Pseudomonas fluorescens*
 T7 ▲ Co-inoc + *B. subtilis*
 T8 ◆ Co-inoc + *B. subtilis/B. megaterium*
 T9 ○ Co-inoc + *P. fluorescens* + *B. subtilis* + *B. subtilis/B. megaterium*



(b)

Figura 7: Massa de mil grãos (MMG) (a), produtividade de grãos (PG) (b), nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no primeiro experimento.

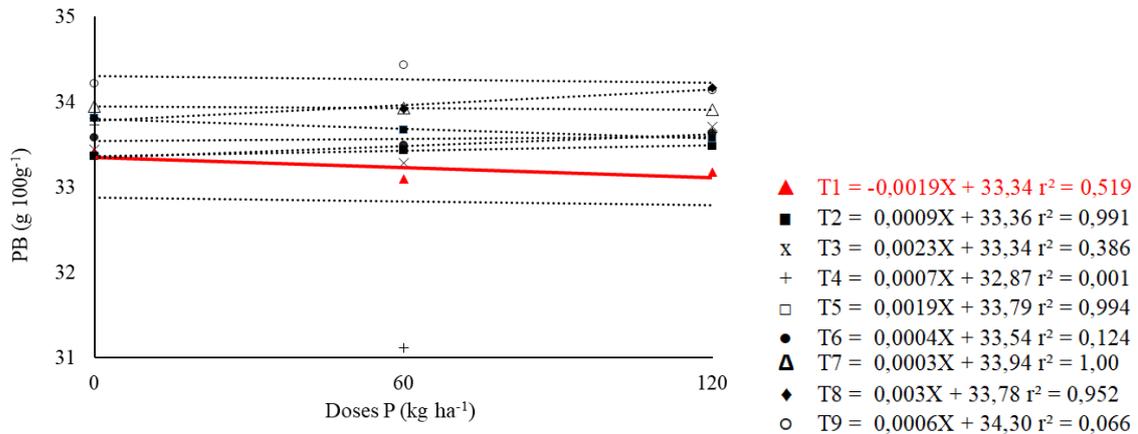


Figura 8: Proteína nos grãos (PB) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no primeiro experimento.

No primeiro experimento, o solo da área experimental estava sem cobertura, estando exposto a estas elevadas temperaturas, além disso, o déficit hídrico também pode ter influenciado diretamente na resposta destes microrganismos neste período de cultivo. De acordo com Moreira e Siqueira (2006), a diversidade microbiana do solo é diretamente relacionada com fatores abióticos (temperatura, água, nutrientes, pH, entre outros) e bióticos (genética microbiana, interação entre microrganismos e outros), que definirão a sobrevivência destes microrganismos no ambiente em que se encontram.

Cada microrganismo possui uma temperatura ótima para sua multiplicação e desenvolvimento (MADIGAN et al., 2010) e com isso, a funcionalidade do sistema solo vai mudar, alterando reações como degradação da matéria orgânica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). No caso do gênero *Bacillus*, maior atividade foi observada em temperaturas médias de 25 a 35°C (PORTER, 1976; MONNERAT et al., 2020).

A temperatura mais favorável para o desenvolvimento de *Pseudomonas fluorescens* é de 25 a 30°C, embora podendo crescer de 5 a 42°C (ÁLVAREZ et al., 2015). *Pseudomonas fluorescens* são capazes de sobreviver em ambientes adversos, devido a produção de um biofilme, e este permite estabelecer uma relação mais eficiente com a planta, apresentando vantagens nutricionais, proteção e facilidade de comunicação na interação bactéria/planta (NILOLAEV; PLAKUNOV, 2007). Assim como *P. fluorescens*, *Bacillus subtilis* também apresentam formação de biofilme (DIAS, 2011).

Considerando a análise de concentração de fósforo no solo pelo método (Mehlich 1), percebe-se (Figura 9) que houve um aumento no teor de P no solo, quando se aumentou a dose para 120 kg ha⁻¹, utilizando os microrganismos *B. subtilis* (T4), *B. subtilis/B. megaterium* (T5) e co-inoculação com todos os microrganismos (T9). Independentemente do microrganismo possível solubilizador de fosfato utilizado, a adição dos microrganismos resultou em aumento na concentração de fósforo no solo já no primeiro ano de utilização.

Os microrganismos solubilizadores de fosfatos apresentam uma resposta lenta em relação ao aumento da disponibilidade do fósforo no solo. Porém, dependendo das condições do solo, é possível verificar uma maior disponibilidade ao curto prazo, sendo que as plantas podem responder nas safras seguintes.

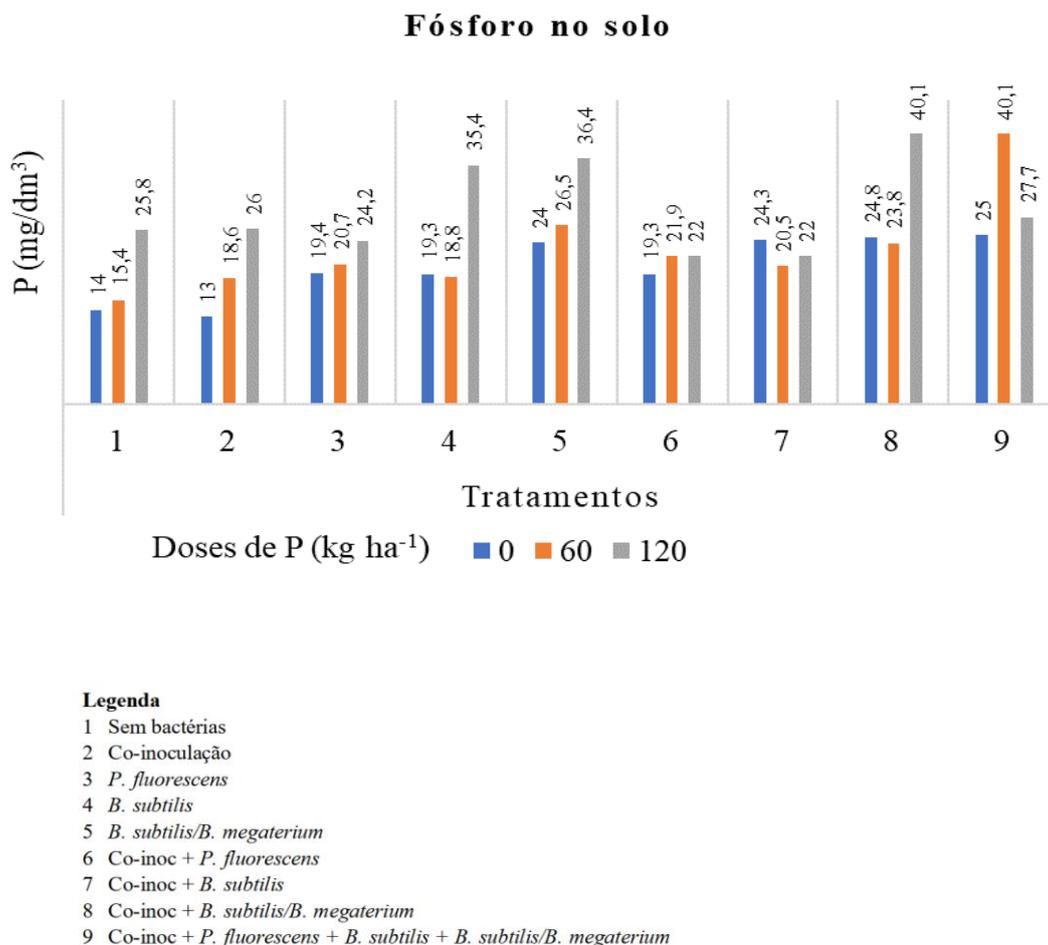


Figura 9: Teor de fósforo no solo na camada 0-10 cm (mg dm³) nos diferentes tratamentos com doses de fósforo no momento da colheita no primeiro experimento.

3.3.2 Segundo experimento

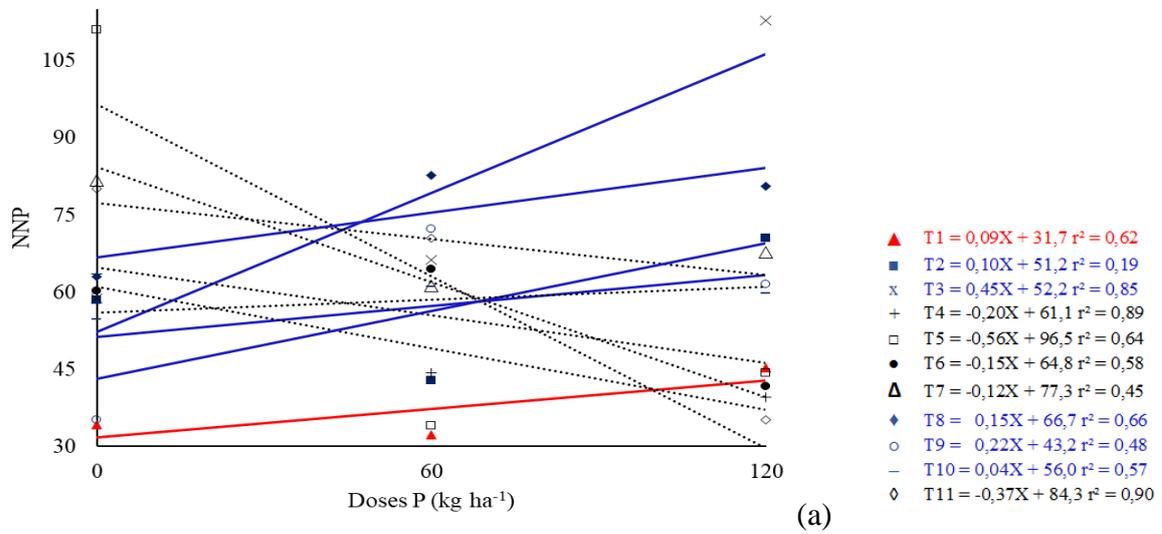
No segundo experimento verifica-se na tabela 4, que houve interação em todas as variáveis analisadas em relação aos tratamentos e doses de P.

Tabela 4: Resumo da análise de variância, representado pelos quadros médios das variáveis resposta do experimento com soja, em função dos tratamentos com bactérias e as doses de fósforo na semeadura do segundo experimento.

FV	GL	NNP	MSN (g)	MMG (g)	PG (kg ha ⁻¹)	MSPA (g)	MSRA (g)
Tratamento	10	1686,46*	0,0538*	115,472*	1515403,40*	53,21*	9,57*
Bloco	3	23,36 ^{ns}	0,00084 ^{ns}	245,647*	109260,95*	0,25 ^{ns}	0,032 ^{ns}
Doses	2	443,01*	0,0188*	52,190*	307034,93*	60,67*	13,14*
Tratamento x Doses	20	1679,82*	0,0866*	84,866*	390501,18*	24,54*	7,43*
Erro	96	24,95	0,0014	11,89	29978,69	0,37	0,11
Média geral		60,35	0,38	185,65	4323,48	13,23	6,02
CV (%)		8,28	9,62	1,86	4,00	4,57	5,57

* Significativo pelo teste F á 5% de probabilidade de erro; ^{ns} não significativo; fonte de variação (FV); grau de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV).

Conforme apresentado na figura 10(a) no segundo experimento, o número de nódulos por planta na dose 0 (sem fósforo), foi maior no tratamento *B. subtilis*/*B. megaterium* (T5) em relação aos demais tratamentos realizados, sendo que os demais tratamentos foram melhores que o tratamento controle, com exceção do T9 (coincoculação + *P. fluorescens* + *B. subtilis* + *B. subtilis*/*B. megaterium*) que apresentou resposta similar ao número de nódulos com o controle.



Legenda

- T1 ▲ Sem bactérias
 T2 ■ Co-inoculação
 T3 x *Pseudomonas fluorescens*
 T4 + *Bacillus subtilis*
 T5 □ *B. subtilis/B.megaterium*
 T6 ● Co-inoc + *P.fluorescens*
 T7 Δ Co-inoc + *B.subtilis*
 T8 ◆ Co-inoc + *B.subtilis/B.megaterium*
 T9 ○ Co-inoc + *P.fluorescens* + *B.subtilis* + *B.subtilis/B.megaterium*
 T10 - Co-inoc + Bac 125
 T11 ◇ Co-inoc + Bac 71

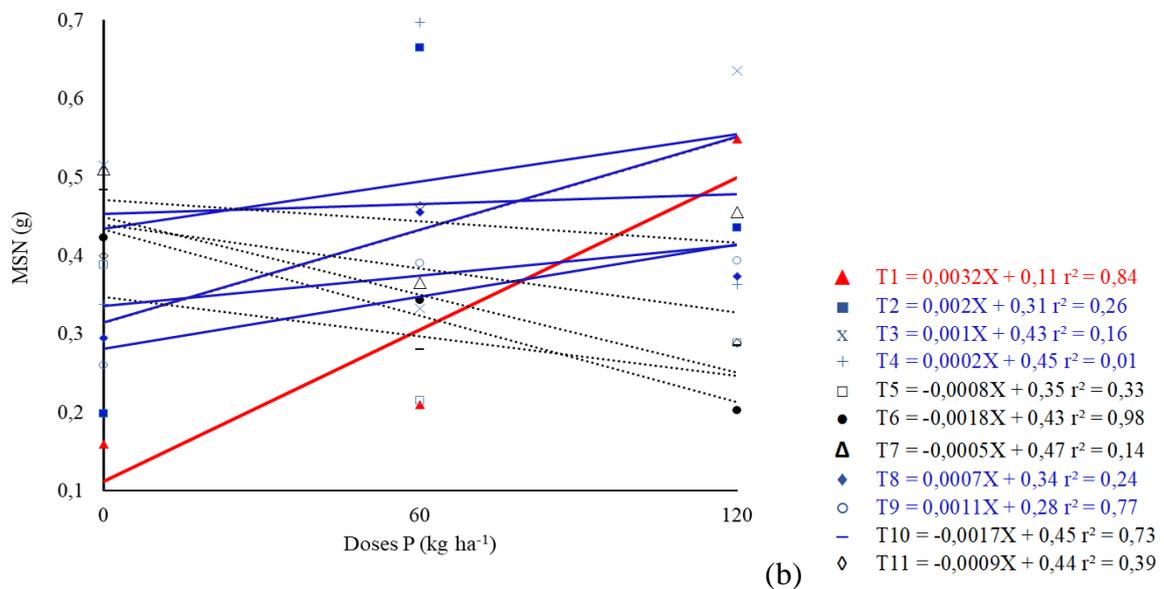


Figura 10: Número de nódulos por planta (NNP) (a) e massa seca de nódulos (MSN) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.

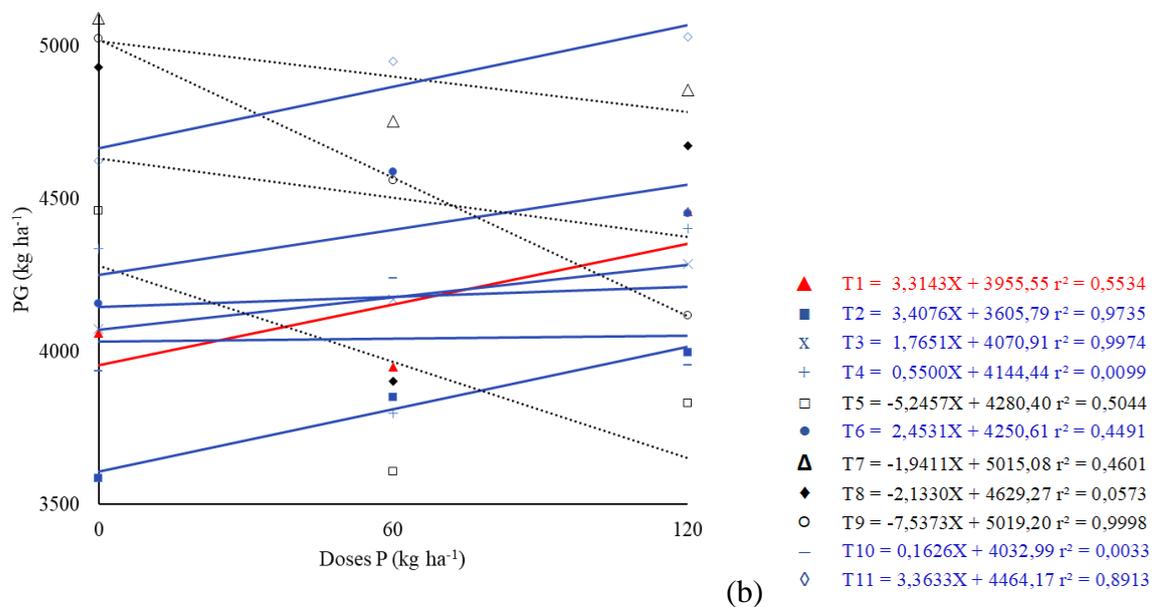
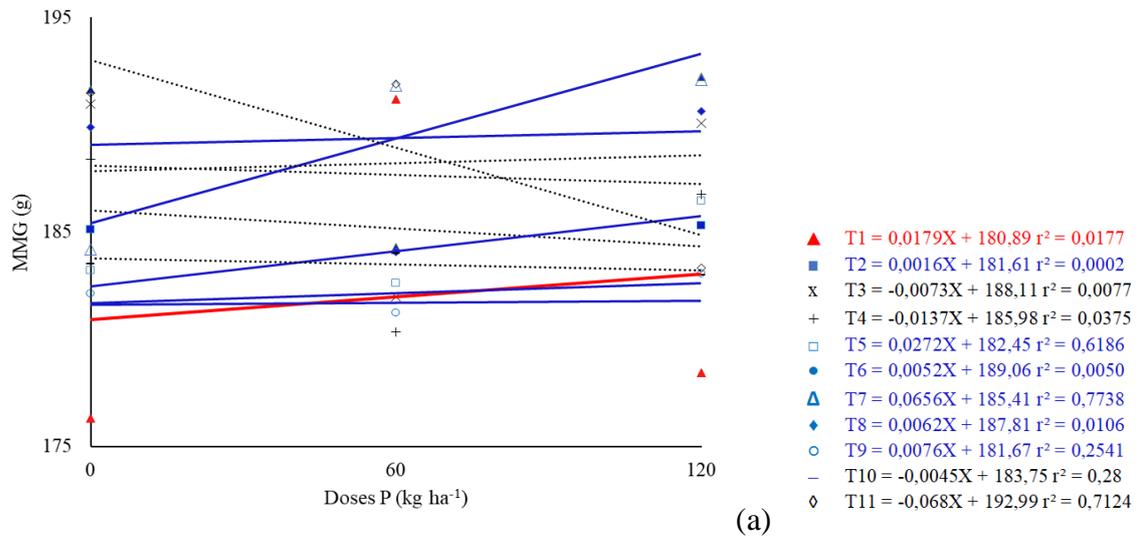


Figura 11: Massa de mil grãos (MMG) (a) e produtividade de grãos (PG) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.

Verificando os resultados para a dose 60 kg ha⁻¹ de P, o maior número de nódulos foi no tratamento com coinoculação + *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T8), sendo que os demais tratamentos também foram melhores que o controle, com exceção da utilização de *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T5). E para a dose 120 kg ha⁻¹ de P, os tratamentos coinoculação (T2),

Pseudomonas fluorescens (T3), coinoculação + *Bacillus subtilis* (T7), coinoculação + *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T8), coinoculação + *P. fluorescens* + *B. subtilis* + *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T9) e Brady + Bac 125 (T10) tiveram maior número de nódulos em relação ao controle sem bactérias.

O aumento de número de nódulos com a utilização de *Bacillus megaterium* já foi comprovado por outros autores. Korir et al. (2017), avaliaram os efeitos da coinoculação em feijão cultivado em solo com baixo teor de P e observaram que plantas inoculadas com *Rhizobium* cepa IITA-PAU 987 e *Bacillus megaterium* aumentaram a nodulação e a massa seca da parte aérea em comparação com a inoculação única com *Rhizobium*.

Quando analisada a MSN (Figura 10b), percebe-se que para a dose 0 kg ha⁻¹ de P todos os tratamentos apresentaram-se com maior massa seca de nódulos, comparando com o tratamento controle. Porém, não houve diferença no tratamento controle (T1) em relação aos tratamentos coinoculação (T2), *Pseudomonas fluorescens* (T3), *B. subtilis* (T4), coinoculação + *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T8) e coinoculação + *P. fluorescens* + *B. subtilis* + *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T9) conforme aumentou-se as doses de fósforo. A menor quantidade de MSN foi obtida no tratamento sem inoculação (T1) na dose 0 kg ha⁻¹ de P com 0,16 gramas de MSN por planta e, a maior foi de 0,70 gramas quando tratada com *Bacillus subtilis* (T4) na dose 60 kg ha⁻¹ de P.

Percebe-se através destes resultados que, a utilização de *B. subtilis* e *B. megaterium* proporcionaram maior NNP e MSN nas condições deste experimento para a cultura da soja. Bactérias do gênero *Bacillus* sp. são promotoras de crescimento, as quais resultam em um sistema radicular mais desenvolvido, e com isso, maior absorção de água e nutrientes, permitindo desta forma, melhor estabelecimento e desenvolvimento da cultura. Além disso, esta bactéria também auxilia no controle de fungos de solo e doenças foliares, permitindo maior sanidade de plantas e conseqüentemente melhor interação destas com a microbiota do solo, e conseqüentemente maior FBN.

A maior produtividade na safra 2020/21 no segundo experimento (Figura 11b), sem a utilização de P, foi obtida com a coinoculação + *B. subtilis* (T7), coinoculação + *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T8) e coinoculação + *P. fluorescens* + *B. subtilis*, *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T9), os tratamentos com *B. subtilis* (T4), *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T5) e *Bradyrhizobium* + Bac 71 (T11), também tiveram melhor produtividade em comparação ao tratamento sem inoculação.

Guimarães et al. (2023), utilizaram inoculante contendo *B. subtilis* e *B. megaterium* na cultura da soja, e verificaram que com a metade da dose recomendada de P para a cultura, apresentam maior produtividade em relação ao tratamento sem a aplicação dos microrganismos e com a dose recomendada de fósforo.

Quando utilizada a dose 60 kg ha⁻¹ de P, os melhores resultados de produtividade foram com Brady + Bac 71 (T11) e coinoculação + *B. subtilis* (T7), além de *Pseudomonas fluorescens* (T3), coinoculação + *P. fluorescens* (T6), coinoculação + *P. fluorescens* + *B. subtilis*, *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T9), Brady + Bac 125 (T10), sendo que todos estes tiveram maior produtividade por hectare em relação ao tratamento controle. Os tratamentos T2 (co-inoc), T4 (*B. subtilis*), T5 (*B. subtilis*/ *B. megaterium*) e T8 (coinoculação + *B. subtilis*/ *B. megaterium*) foram iguais ou inferiores ao controle.

O aumento de produtividade de grãos com a utilização de bactérias solubilizadoras de fosfato têm sido resultados de várias pesquisas. Emani et al. (2020) concluíram que a utilização de BSF, além de aumentar a produtividade na cultura do trigo, aumentou a matéria seca da raiz e da parte aérea, além da maior absorção de P, o comprimento, a área superficial e também o volume das raízes. E ainda, o efeito mais pronunciado foi observado no tratamento com bactérias solubilizadoras de fosfato e a coinoculação, sugerindo um sinergismo entre estes microrganismos. Estes autores sugerem que a coinoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato seja uma forma crucial de melhorar a eficiência de P na produção de trigo (EMAMI, et al. 2020).

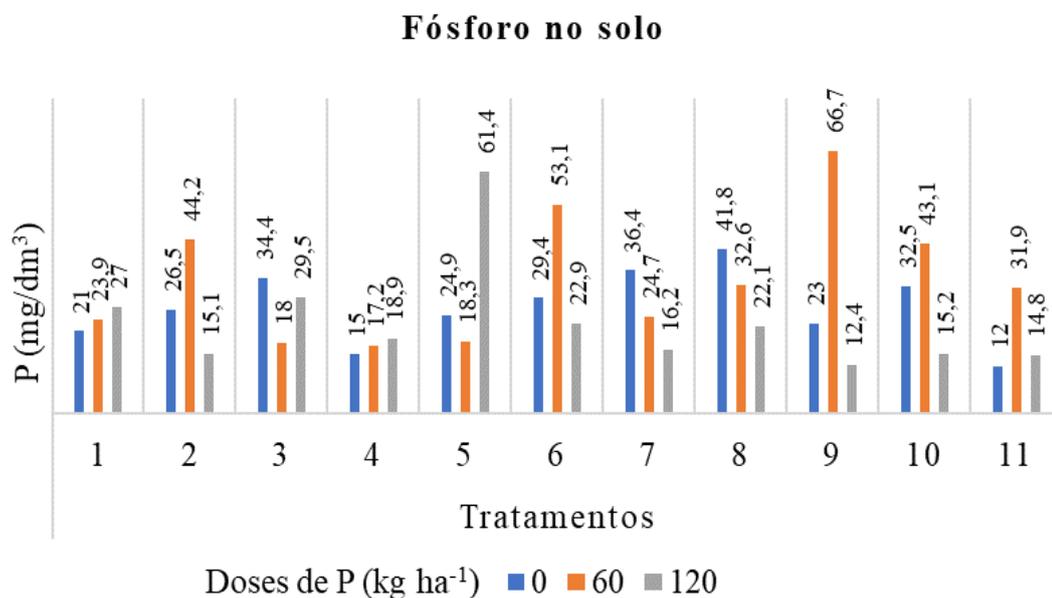
Conforme os resultados apresentados (Figura 11b), pode-se perceber o benefício da utilização de alguns destes microrganismos como por exemplo, coinoculação com *B. subtilis* o qual obteve a melhor produtividade em ambas as doses testadas, assim como, coinoculação mais *B. subtilis*, *P. fluorescens*, *B. subtilis*/*B. megaterium* para as doses 0 e 60 kg ha⁻¹ de P, e ainda, o tratamento com *B. japonicum* mais Bac 71 que obteve maior produtividade em ambas as doses. Utilizando a maior dose de P (120 kg ha⁻¹ de P), a melhor resposta em aumento de produtividade foi no tratamento com coinoculação + Bac 71 (T11), sendo que os demais tratamentos testados, foram iguais ou inferiores ao controle (sem bactérias).

De acordo com os dados no gráfico de precipitação e temperatura no segundo experimento (Figura 4), pode-se perceber que as precipitações foram mais regulares comparando com o experimento anterior (2019/2020), e com isso, condições mais favoráveis para o estabelecimento das bactérias aplicadas no solo.

Verificando os resultados de teor de fósforo por Mehlich (Figura 12), destaca-se o valor de 61,4 mg/dm³ de P na dose 120 kg ha⁻¹ de P no tratamento com *B. subtilis*/ *B. megaterium* (T5), 53,1 mg/dm³ de P na dose 60 kg ha⁻¹ de P com a utilização de co-inoc + *P. fluorescens* (T6), e com o valor de P ainda mais elevado no solo, a utilização de coinoculação + *P. fluorescens* + *B. subtilis*, *B. subtilis*/*B. megaterium* (T9) na dose 60 kg ha⁻¹ de P, resultou em 66,7 mg/dm³ de P no solo.

O fósforo é um elemento de grande complexidade, considerando que os processos de adsorção e dessorção deste elemento no solo ocorrem através da solução e da fase sólida, sendo que estas estão de alguma forma interligadas. A utilização de microrganismos promotores de crescimento e possíveis solubilizadores de fosfatos, interferem no processo de maior ou menor disponibilidade deste elemento no solo. Microrganismos participam da mineralização e decomposição da matéria orgânica e desta forma, a resposta da concentração de fósforo no solo será variável a cada safra, sendo que ao mesmo tempo que este elemento está sendo disponibilizado para a solução do solo, parte dele está sendo imobilizado.

Devido à grande variabilidade nos resultados da concentração de P no solo, optou-se por avaliar a concentração de fósforo que realmente foi aproveitada pelas plantas no próximo experimento.

**Legenda**

- 1 Sem bactérias
- 2 Co-inoculação
- 3 *P. fluorescens*
- 4 *B. subtilis*
- 5 *B. subtilis/B. megaterium*
- 6 Co-inoc + *P. fluorescens*
- 7 Co-inoc + *B. subtilis*
- 8 Co-inoc + *B. subtilis/B. megaterium*
- 9 Co-inoc + *P. fluorescens* + *B. subtilis* + *B. subtilis/B. megaterium*
- 10 Brady + Bac 125
- 11 Brady + Bac 71

Figura 12: Teor de fósforo no solo na camada 0-10 cm nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.

Considerando a MSPA (Figura 13a), obteve-se a menor massa de 6,58 gramas quando utilizado *Bacillus subtilis* (T4) no tratamento sem P, sendo que na dose 60 kg ha⁻¹ de P a utilização de *Bacillus subtilis/Bacillus megaterium* (T5) resultou em 6,19 gramas de MSPA seguido do controle T1 (sem inoculação) com 7,35 gramas. Os resultados com melhor resposta para massa seca de parte aérea foram Brady + Bac125 (T10) sem a utilização de fósforo (0 kg ha⁻¹ de P) com 19,51 gramas, sendo que o tratamento coinoculação + *B. subtilis* (T7) na dose 120 kg ha⁻¹ de P com 18,47 gramas de MSPA.

Pesquisas realizadas para avaliar a MSPA, revelaram o aumento da MSPA com o aumento da dose de fósforo (ROCHA et al., 2018). Esta resposta, pode ser comparada com o resultado dos tratamentos T2 (coinoculação), T4 (*Bacillus subtilis*), T7 (coinoculação + *B. subtilis*), T8 (coinoculação + *B. subtilis/B. megaterium*) e T11 (Brady + Bac 71) desta pesquisa, que obtiverem maior MSPA conforme aumentou-se as doses de fósforo no solo.

Outras pesquisas também vêm demonstrando resultados semelhantes, Fernandes et al. (2013) verificaram que o aumento nas doses de P, resultaram em aumento da massa seca de parte aérea do feijão-caupi. Estes resultados nos mostram um caminho a ser estudado, onde, a importância do elemento fósforo, seja na formação da molécula de ATP que auxilia na fotossíntese, seja nas outras diversas funções do elemento, resultando em maior crescimento e desenvolvimento das plantas e conseqüentemente maior massa seca de parte aérea.

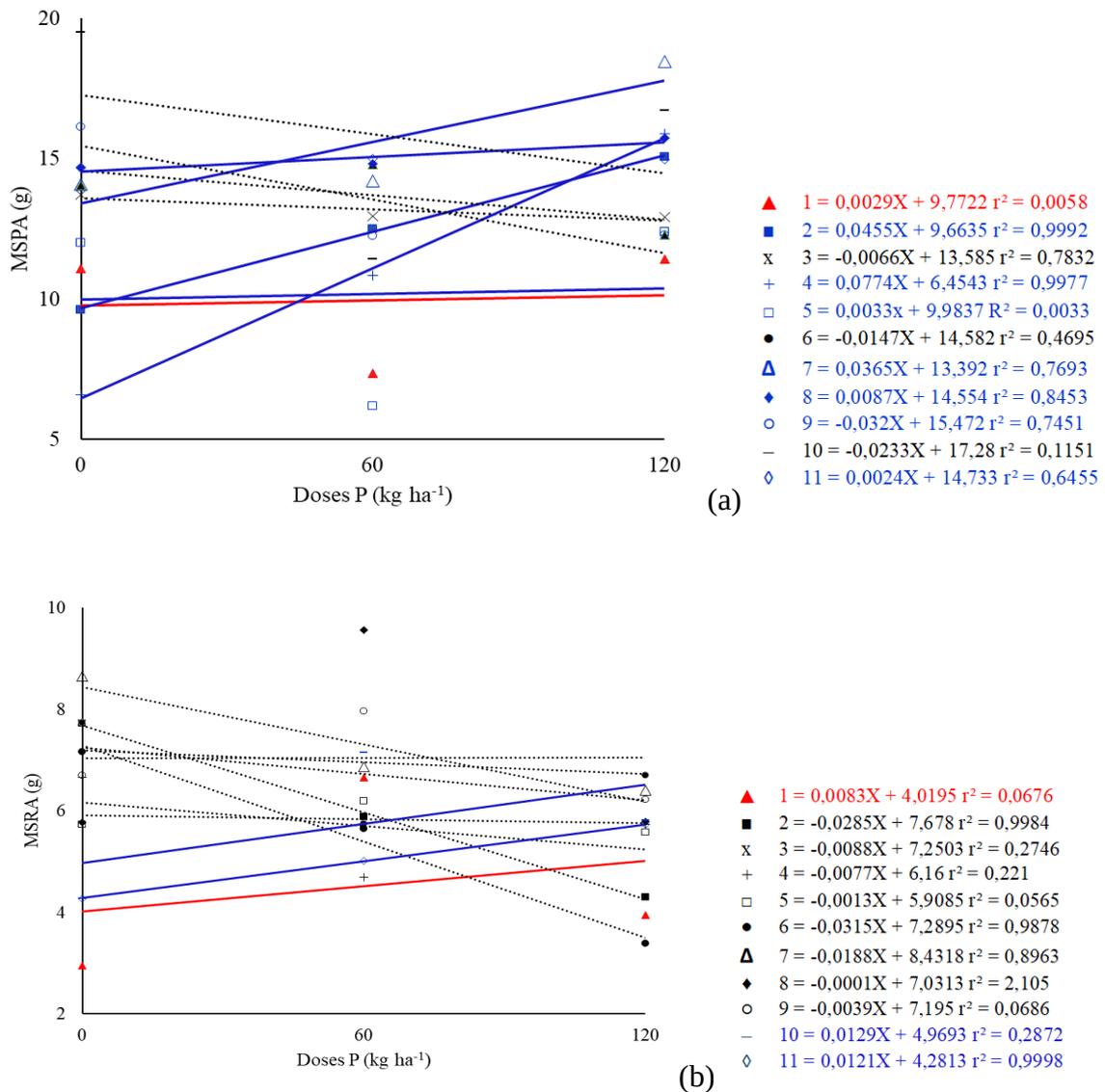


Figura 13: Massa seca de parte aérea (MSPA) (a) e massa seca de raiz (MSRA) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.

O aumento da concentração do fósforo no solo nem sempre será benéfico para as plantas. São vários os fatores que interferem na eficiência da adubação fosfatada, bem como, na disponibilidade deste no solo e na absorção pelas plantas. Na avaliação de MSRA, houve maior massa seca quando se aumentou as doses de fósforo, apenas nos tratamentos T1 (sem inoculação), T10 (Brady + Bac 125) e T11 (Brady + Bac 71) conforme apresentado na figura

9. Nos tratamentos T2 (coinoculação), T3 (*P. fluorescens*), T4 (*B. subtilis*), T6 (coinoculação + *P. fluorescens*) e T7 (coinoculação + *B. subtilis*), o melhor resultado em MSRA foi sem a aplicação de P no solo e, quando se utiliza 60 kg ha⁻¹ de P amentou-se a massa seca de raízes nos tratamentos T5 (*B. subtilis/B. megaterium*), T8 (coinoculação + *B. subtilis/B. megaterium*) e T9 (coinoculação + *P. fluorescens* + *B. subtilis* + *B. subtilis/B. megaterium*).

Verifica-se nas condições deste experimento que, uma dose intermediária de fósforo (60 kg ha⁻¹ de P) combinado a *B. subtilis* e *B. megaterium*, resulta no maior crescimento e desenvolvimento das raízes de soja, respondendo em maior MSRA. Tendo a possibilidade de uma redução na adubação (0 e 60 kg ha⁻¹ de P), podendo desta forma diminuir os custos com fertilizantes fosfatados na cultura quando utilizados estes microrganismos. Estes resultados se assemelham com os observados por Chagas Júnior et al. (2014), onde a maior massa seca de raiz ocorreu com a adubação de 80 kg ha⁻¹ de P. Um sistema radicular bem estabelecido, é essencial para a absorção de água e nutrientes (RIBEIRO et al., 2018).

O aumento de doses de fósforo no solo, possibilita o acúmulo do elemento no solo, podendo este, ser facilmente fixado por óxidos e hidróxidos de Ferro e Alumínio e nos minerais de argila, tornando estes indisponíveis para as plantas (MENEZES-BLACKBURN et al., 2018), além do aumento no custo com a adubação. Outro problema causado pelo excesso de fósforo no solo, são as perdas por escoamento e/ou lixiviação resultando em contaminação de águas (LIU et al., 2020; ELTOHAMY et al., 2021; PAVINATO et al., 2020).

A eficiência da inoculação com *B. subtilis* e *B. megaterium* já foi mostrada por Oliveira et al. (2009), tanto no aumento do sistema radicular de plantas como na maior capacidade destas bactérias de disponibilizar o fósforo complexado por Ca, Fe e Al no solo.

Outros estudos indicam a eficiência da inoculação, neste caso com *Herbaspirillum seropedicae* (HIII 206) e *Burkholderia* sp. (UENF 114111), combinada com doses de fósforo, a qual resultou em maior altura de plantas, número de folhas e massa seca de folhas do milho (BALDOTTO et al., 2012).

3.3.3 Terceiro experimento

Entre as variáveis analisadas no terceiro experimento (2021/2022) (Tabela 5), houve interação entre tratamentos e doses de fósforo para número de nódulos por planta (NNP), massa seca de nódulos (MSN), produtividade de grãos (PG), fósforo na parte aérea (PPA) e

comprimento de raiz (CR). Sendo que para as variáveis massa de mil grãos (MMG), concentração de fósforo na raiz, área e volume de raiz, não houve diferença entre tratamentos com bactérias e doses de fósforo.

Tabela 5: Resumo da análise de variância, representado pelos quadros médios das variáveis resposta do experimento com soja, em função dos tratamentos com bactérias e as doses de fósforo na semeadura para as variáveis no terceiro experimento.

FV	GL	NNP	MSN (g)	MMG (g)	PG (kg ha ⁻¹)	PPA (g kg)	PRA (g kg)	CR (cm)	AR (cm ²)	VR (cm ³)
Tratamento	4	258,09 ^{ns}	0,01 ^{ns}	85,79 ^{ns}	125612,86 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,29 ^{ns}	3832496,86*	83461,91*	13,13*
Doses	2	105,16 ^{ns}	0,02 ^{ns}	329,92*	43952,35 ^{ns}	1,20*	2,84*	32643610,00*	568309,32*	60,37*
Bloco	2	12,42 ^{ns}	0,02 ^{ns}	125,26 ^{ns}	219306,61*	0,46*	0,23 ^{ns}	3951525,70 ^{ns}	38158,34 ^{ns}	2,01 ^{ns}
Tratamento x Doses	8	466,24*	0,01*	104,58 ^{ns}	200734,72*	0,37*	0,19 ^{ns}	3547498,81*	43755,33 ^{ns}	4,41 ^{ns}
Erro	28	104,90	0,01	54,37	58751,97	0,07	0,24	1472998,21	23187,56	3,55
Média geral		31,18	0,23	141,26	2435,54	3,57	2,23	6175,10	878,96	10,09
CV (%)		32,85	35,20	5,22	9,95	7,15	22,05	19,65	17,32	18,67

* Significativo pelo teste Scott knott á 5% de probabilidade de erro; ns não significativo; fonte de variação (FV); grau de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV).

Onde: NNP-número de nódulos por planta; MSN-massa seca de nódulos; MMG-massa de mil grãos; PG- produtividade de grãos; PPA-concentração de fósforo no tecido da parte aérea; PRA-concentração de fósforo na raiz; CR-comprimento de raiz; AR-área de raiz e VR-volume de raiz.

Conforme apresentado na figura 14(a), o número de nódulos por planta foi maior com o aumento de doses de fósforo nos tratamentos coinoculação + *P. fluorescens* (T4) e coinoculação + Bac 71 (T5). Utilizando a coinoculação + *B. megaterium* (T2) ocorreu o inverso, aumentando as doses de fósforo houve redução na nodulação de plantas, porém nos tratamentos com apenas a coinoculação (T1) e coinoculação + *B. subtilis* (T3), não houve diferença com o aumento nas doses de P no solo.

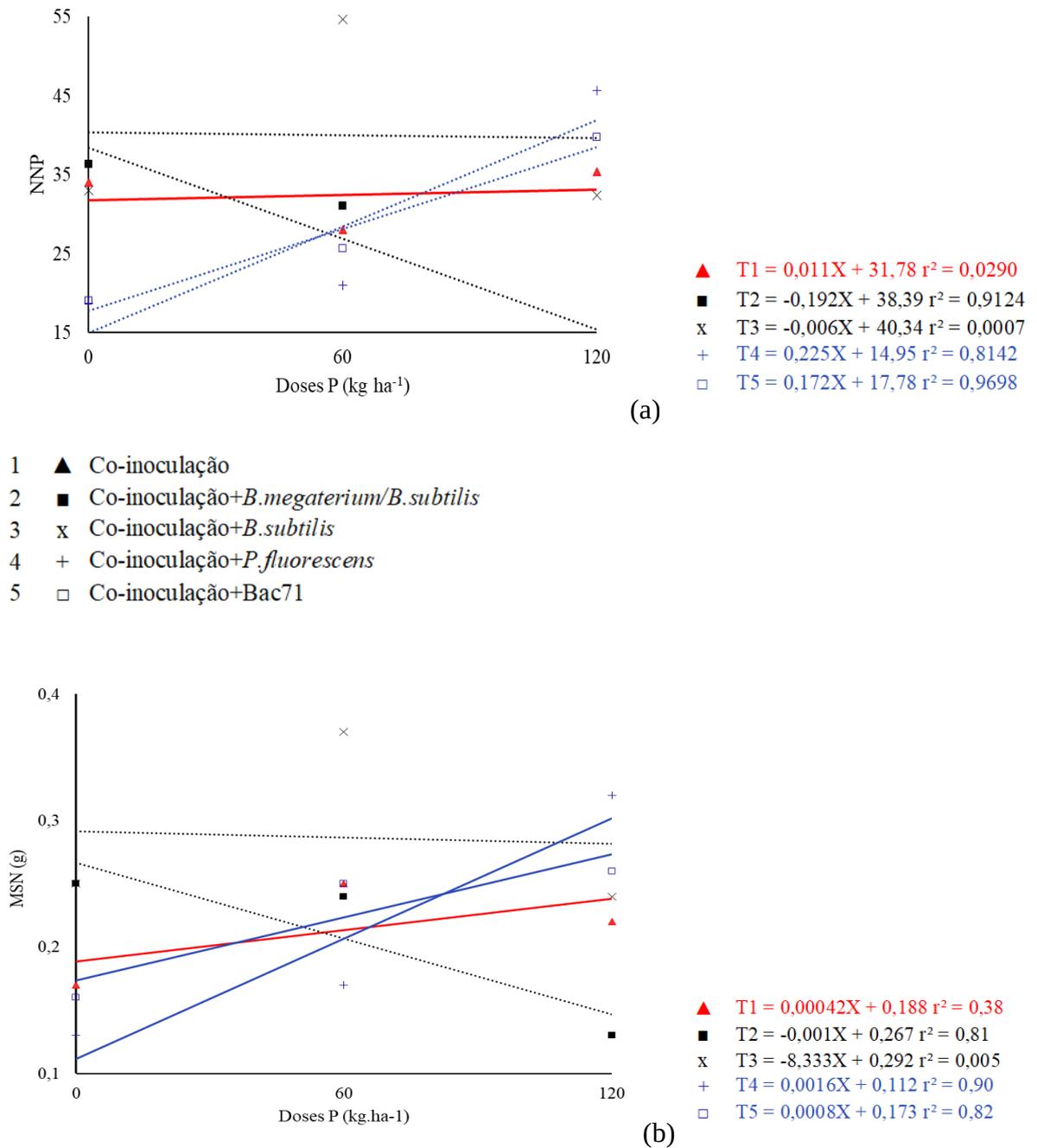


Figura 14. Número de nódulos por planta (NNP) (a) e massa seca de nódulos (MSN) (b), nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.

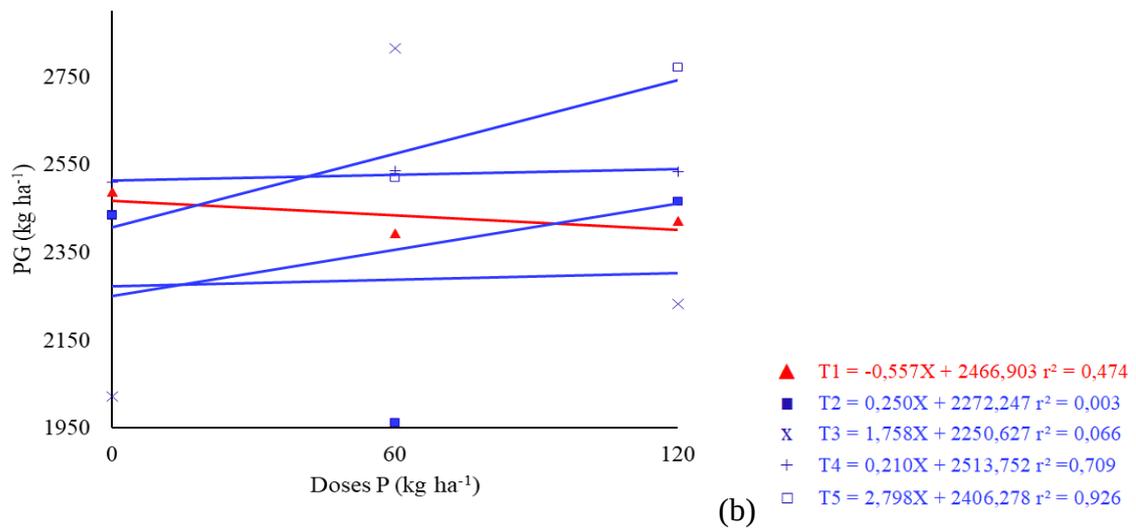
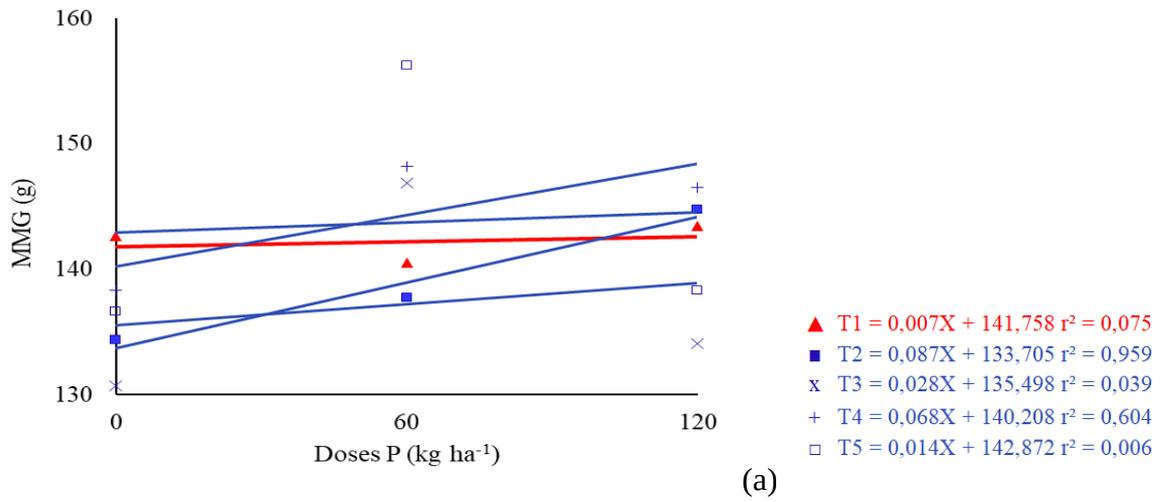


Figura 15. Massa de mil grãos (MMG) (a) e produtividade de grãos (PG) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.

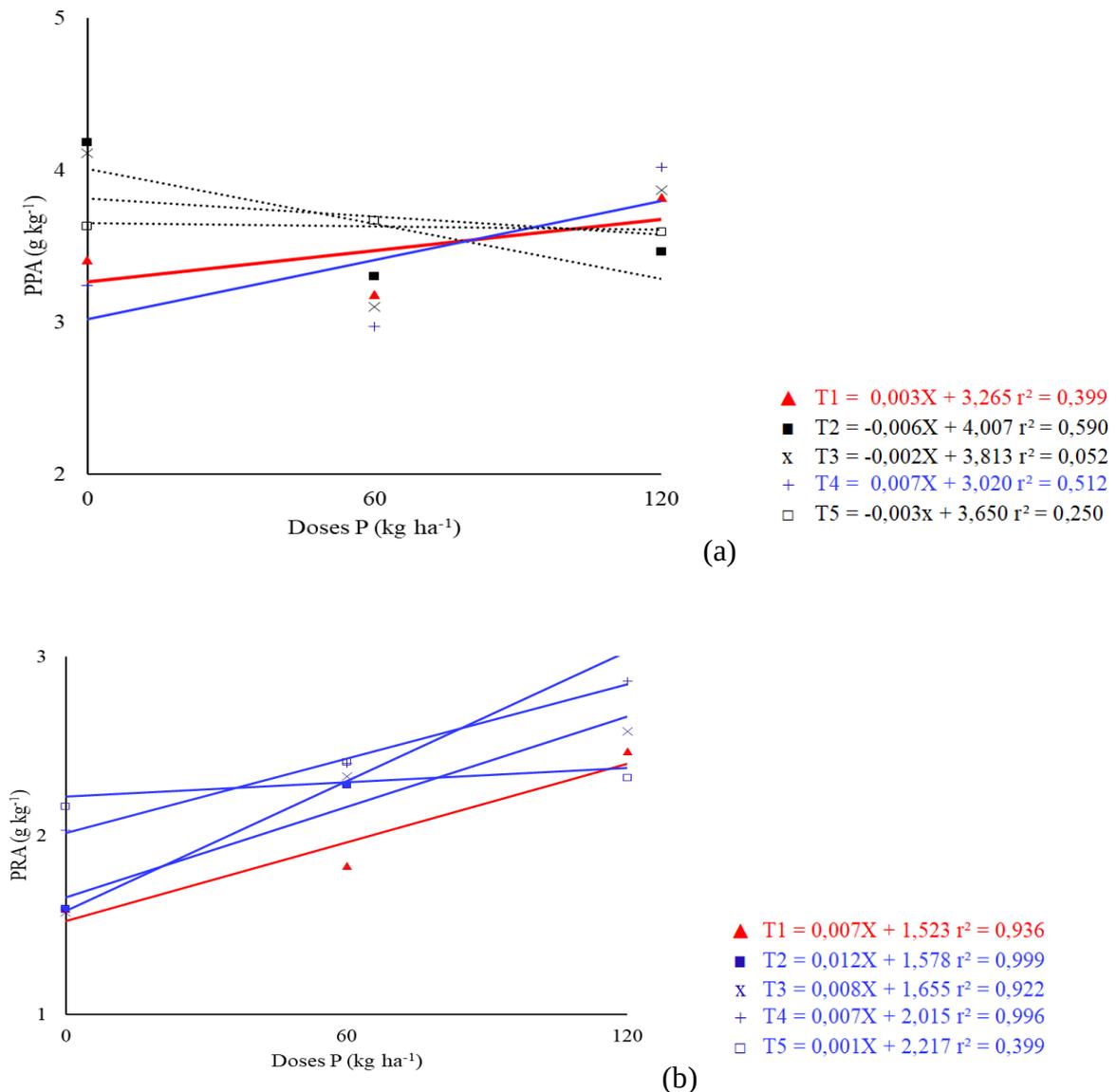


Figura 16. Teor de fósforo na parte aérea (PPA) (a) e teor de fósforo na raiz (PRA) (b) nas diferentes doses de fósforo (0, 60 e 120 kg ha⁻¹) em relação aos tratamentos com bactérias no segundo experimento.

Considerando a concentração de fósforo na parte aérea (PPA) e na raiz (PRA), verifica-se nas figuras 16(a) e 16(b), que os tratamentos coinoculação + *B. megaterium* (T2), coinoculação + *B. subtilis* (T3) e coinoculação + Bac 71 (T5) no tratamento sem fósforo apresentaram-se com maior teor de fósforo na parte aérea e na raiz.

Os tratamentos apenas com a coinoculação (T1) e coinoculação + *P. fluorescens* (T4), obtiveram maior concentração de P na parte aérea e na raiz com o aumento nas doses de P no

solo. Este resultado pode ser justificado, devido a associação de alguns microrganismos com a fertilização fosfatada, aumentar de forma gradativa a atividade enzimática microbiana, além da ciclagem de nutrientes no solo, resultando em efeito residual do P no solo (BATISTA et al.; DINIZ, et al., 2016). Pesquisa realizada por Inagaki et al. (2014), observaram que a utilização de superfosfato simples e a coinoculação (*Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*), resultou em maior altura de plantas comparando com o tratamento controle.

Observando a figura (15b) de produtividade de grãos, percebe-se que o tratamento controle (T1) apenas com a coinoculação resultou em redução de produtividade, conforme aumentou-se as doses de P no solo. Os demais tratamentos onde se utilizaram as bactérias promotoras de crescimento, os resultados foram contrários, sendo que com o aumento nas doses de fósforo no solo, houve resposta positiva na produtividade da soja.

A resposta positiva em produtividade utilizando microrganismos do gênero *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp., sugere evidências da eficiência destes microrganismos na promoção de crescimento, desde o estabelecimento inicial da cultura, melhor aproveitamento dos nutrientes no solo e conseqüentemente, maior produtividade. Este resultado pode ser relacionado com pesquisas de outros autores, por exemplo, o gênero *Pseudomonas* pode aumentar a disponibilidade de nutrientes no solo e conseqüentemente melhorar o desenvolvimento e a produtividade de plantas (DELSHADI; EBRAHIMI e SHIRMOHAMMADI, 2017). O gênero *Bacillus* compõe a maior parte das bactérias promotoras de crescimento, sendo que estas, são importantes desde o processo de germinação, crescimento, desenvolvimento e rendimento das culturas agrícolas, através da produção de substâncias promotoras de crescimento e outros compostos como auxinas e citocininas (SANTOS et al., 2019; GAGNÉ-BOURQUE et al., 2015).

De acordo com Miranda et al. (2020), *B. subtilis* favorece o desenvolvimento da cultura da soja, aumentando a produtividade. O *B. megaterium* utilizado na cultura da soja, promoveu aumento de auxinas, produção de sideróforos e solubilização de fosfatos, sendo alguns mecanismos que podem explicar a resposta em promoção de crescimento na cultura (SUBRAMANIAN et al., 2014).

Os microrganismos solubilizadores vêm sendo utilizados como forma de aumentar a disponibilidade de fósforo no solo, por meio do fluxo de P pela biomassa microbiana, solubilização do fósforo inorgânico, mineralizando o fósforo orgânico e ainda, aumentando a atividade de enzimas fosfatases (CAMPOS et al., 2016).

A coinoculação se torna importante com bactérias solubilizadoras de fosfato, pois, o *Bradyrhizobium* sp. possui importante função da FBN, o *Azospirillum brasilense* age no estímulo de pelos radiculares, aumentando a área de absorção (VAN DE WIEL et al., 2017). Quando se utiliza a coinoculação com *B. subtilis* e *B. megaterium*, verifica-se o aumento da produtividade na soja, podendo ocorrer um efeito sinérgico entre estes microrganismos, aumentando os benefícios da utilização (SCHWAAB & AGUIAR, 2019).

A aplicação de BSF com fertilizantes fosfatados, têm apresentado respostas positivas também para outras culturas. Em feijão-mungo, a aplicação de bactérias em diferentes níveis de adubação fosfatada, aumentou a absorção de P pela cultura, além do maior número de nódulos e aumento de produtividade, quando comparada com tratamento utilizando apenas a adubação (KHAN et al., 2022).

Na figura 5, apresentou-se o gráfico de precipitação e temperatura no período do experimento na safra 2021/22. Verifica-se que houve deficiência hídrica por longos períodos, principalmente no estabelecimento inicial até o período de floração, sendo que o período crítico para deficiência hídrica na cultura da soja inicia a partir do estágio de florescimento, ou seja, no período reprodutivo (SENTELHAS et al., 2015). Porém, após o florescimento, houve regularidade na precipitação, porém, volumes ainda baixos.

Bactérias do gênero *Bacillus* sp. possuem capacidade de produzir biofilmes, auxiliando na tolerância das plantas ao déficit hídrico. O biofilme é a formação de uma camada protetora ao redor das células que resulta maior tolerância das plantas aos estresses abióticos, os quais podem causar impactos negativos no desenvolvimento das culturas (ANSARI et al., 2021; ZHANG et al., 2015). Bactérias podem ainda, produzir exopolissacarídeos que funcionam com agentes de biocontrole (CHENNIAPPAN et al., 2019).

3.4 CONCLUSÃO

Considerando os três experimentos realizados nas safras 2019, 2020 e 2021, conclui-se com esta pesquisa que o tratamento utilizando a BAC 71 (com *Bradyrhizobium japonicum* ou na coinoculação) na dose de 120 kg ha⁻¹ de P seria o tratamento com melhores respostas, porém considerando o efeito de outros microrganismos, torna-se possível a utilização de doses menores na adubação fosfatada, possibilitando a redução de custos na produção de soja.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. S. et al. Efeito da adubação fosfatada sobre a população de micro-organismos solubilizadores e mineralizadores de fósforo isolados em rizosfera de milho. **XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Milho e Sorgo: Inovações, mercados e segurança alimentar, 2016.

ÁLVAREZ, S. P. et al. *Pseudomonas fluorescens* Migula, biological control or pathogen? **Revista de Protección Vegetal**, v. 30 n. 3, p. 225-234, 2015. Disponível em: <<http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30n3/rpv08315.pdf>>. Acesso: 20 jan. 2023.

ANSARI, F. A.; JABEEN, M. & AHMAD, EU. *Pseudomonas azotoformans* FAP5, a novel biofilm-forming PGPR strain, alleviates drought stress in wheat plant. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 18, p. 3855-3870, 2021. doi: <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.153.3737.708>.

ALOO, B. N.; MAKUMBA, B. A. & MBEGA, E. R. The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability. **Microbiological Research**, v. 219, p. 26–39, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.011>.

ARAI, Y. & SPARKS, D. Phosphate Reaction Dynamics in Soils and Soil Components: A Multiscale Approach. **Advances in Agronomy**, v. 94, p. 135–179, 2007. doi: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(06\)94003-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(06)94003-6).

ARAUJO, F. F. Seed inoculation with *Bacillus subtilis*, formulated with oyster meal and growth of corn, soybean and cotton. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 456–462, 2008. doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000200017>.

ARGAW, A. Efetividade simbiótica da inoculação com isolados de *Bradyrhizobium* em genótipos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] com diferentes maturidades. **SpringerPlus**, v. 3, p. 1-13. 2014. doi: <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-753>.

ARGUS MEDIA (ARGUS). Histórico de Preços CFR Brasil de Ureia, (MAP), (MOP) e Gás Natural. 2021. Disponível em: <https://www.argusmedia.com/pt> Acesso: 07 mar. 2023.

ATTARZADEH, M. et al. Improvement of *Echinacea purpurea* performance by integration of phosphorus with soil microorganisms under different irrigation regimes. **Agricultural Water Management**. v. 221, p. 238-247, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.04.022>.

BALDOTTO, L. E. et al. Initial growth of maize in response to application of rock phosphate, vermicompost and endophytic bacteria. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 262-270, 2012. doi:

<https://doi.org/10.1590/S0034-737X2012000200016>.

BALZERGUE et al. Low phosphate activates STOP1-ALMT1 to rapidly inhibit root cell elongation. **Nature Communications**, v. 8, 15300, 2017. doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms15300>.

BARDGETT, R. D. & CARUSO, T. Soil microbial community responses to climate extremes: resistance, resilience and transitions to alternative states. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 375, n. 1794, p. 1-13, 2020. doi: <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0112>.

BARRA, P. J. et al. Phosphobacteria inoculation enhances the benefit of P-fertilization on *Lolium perenne* in soils contrasting in P-availability. **Soil Biology and Biochemistry [online]** v. 136, 107516. 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.06.012>.

BISSANI, C. A. et al. **Fertilidade dos Solos e Manejo da Adubação de Culturas**. ed. 2., 344p., 2008.

BONFIM-SILVA, E. M. et al. **Girassol como adubo verde: contribuições para o solo e comportamento à aplicação de adubos fosfatados e calagem**. Universidade Federal de Mato Grosso, 18p., 2013.

CAMPO, J. R.; HUNGRIA, M. Compatibilidade de uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja. **Embrapa Soja. Circular Técnica**, 26, 32 p., 2000.

CASSÁN, F., & DIAZ ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 103, p. 117-130, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.08.020>.

CHAGAS JÚNIOR, A. F. et al. Eficiência da inoculação combinada de rizóbio e *Trichoderma* spp. em diferentes cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no cerrado (Savana Brasileira). **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p.20-28, 2014. doi: <https://doi.org/10.19084/rca.16795>.

CHANEY, R. L. Questões de Segurança Alimentar para Fertilizantes Minerais e Orgânicos. **Advances in Agronomy**. v. 117, p. 51–116, 2012.

CHEN, Z. J. et al. Identification of differentially expressed proteins in soybean nodules under phosphorus deficiency through proteomic analysis. **Proteomics**, v. 11, p. 4648-4659, 2011. doi: <https://doi.org/10.1002/pmic.201100231>.

CHEN, Z. et al. A nodule-localized phosphate transporter GmPT7 plays an important role in enhancing symbiotic N₂ fixation and yield in soybean. **New Phytologist**. v. 221, n. 4, p.2013-

2025, 2019. doi: <https://doi.org/10.1111/nph.15541>.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. **Conab**, v. 10, safra 2022/2023, n.6, sexto levantamento, março, 2023.

COOPER, J. et al. The future distribution and production of global phosphate rock reserves. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 57, p. 78-86, 2011. doi: <https://doi.org/101016/j.resconrec.2011.09.009>.

DELSHADI, S.; EBRAHIMI, M. & SHIRMOHAMMADI, E. Effectiveness of plant growth promoting rhizobacteria on *Bromus tomentellus* Boiss seed germination, growth and nutrients uptake under drought stress. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 11-18, 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.006>.

DEVAU, N. et al. Soil pH controls the environmental availability of phosphorus: Experimental and mechanistic modelling approaches. **Applied Geochemistry**, v. 24, p. 2163–2174, 2009. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2009.09.020>.

DIAS, A. **Pesquisa de opinião pública:** Caracterização e seleção de bactérias fluorescentes promotoras de crescimento de couve. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-UFRRJ, p.155, 2011. E-book. Disponível em: <https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/1162> Acesso: 06 fev. 2023.

DIAZ, P. A. E. **Pesquisa de opinião pública:** *Bacillus* spp. como promotores de crescimento na cultura do algodão. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018. E-book. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/153201/diaz_pae_me_jabo.pdf?sequence=3&isAllowed=y Acesso: 06 fev. 2023.

DINIZ, G. F. D. et al. Avaliação da atividade enzimática em cultivo de milheto adubado com fertilizantes organominerais. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 32; Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 16; Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo, 14; Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 11. Rumo aos novos desafios: [anais]. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Fertbio, p. 1010, 2016.

DESMIDT, E. et al. Global phosphorus scarcity and full-scale P-recovery techniques: a review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 45, p. 336, 2015. doi: <https://doi.org/10.1080/10643389.2013.866531>.

DODD, R. J. & SHARPLEY, A. N. Recognizing the role of soil organic phosphorus in soil fertility and water quality. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 105, p. 282-293, 2015. doi: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2015.10.001>.

DORNELAS, J. C. M. et al. Characterization and phylogenetic affiliation of Actinobacteria from tropical soils with potential uses for agro-industrial processes. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 3, p. 1-16, 2017.

ELTOHAMY, K. M. et al. An internet-based smart irrigation approach for limiting phosphorus release from organic fertilizer-amended paddy soil. **Journal of Cleaner Production**, v. 293, 126254, 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126254>.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **BioAS – Tecnologia de Bioanálise de Solo**, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/6047/bioas—tecnologia-de-bioanalise-de-solo->>. Acesso: 20 jan. 2023.

EMAMI, S. et al. Consortium of endophyte and rhizosphere phosphate solubilizing bacteria improves phosphorous use efficiency in wheat cultivars in phosphorus deficient soils. **Revista Rhizosphere**, v. 14, artigo 100196, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100196>.

FANG, X. Z. et al. The K^+ and NO_3^- Interaction Mediated by NITRATE TRANSPORTER1.1 Ensures Better Plant Growth under K^+ . Limiting Conditions. **Plant Physiology**, v. 184, p.1900-1916, 2020. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.20.01229>.

FERNANDES, A. R.; FONSECA, M. R. & BRAZ, A. M. S. Produtividade de feijão-caupi em função da calagem e fósforo. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 4, p.54–62, 2013. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=237129900007>> Acesso: 15 dez. 2022.

GATIBONI, L. C. et al. Fracionamento químico das formas de fósforo do solo: Usos e limitações. In: ARAÚJO AP, ALVES BJR. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 8. p. 141-187, 2013.

GLICK, B. R. Interações benéficas entre plantas e bactérias. **Heidelberg: Springer**. p. 1–28, 2015. doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-44368-9>.

GUIMARÃES, V. F.; KLEIN, J. & KLEIN, D. K. Growth promotion and phosphorus solubilization, by *Bacillus megaterium* and *B. subtilis*, via seed inoculation, associated with phosphate fertilization, in soybean. **Research Society and Development**. v.12, n2, e9812240062, 2023. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i2.40062>.

GAGNÉ-BOURQUE, F. et al. Accelerated growth rate and increased drought stress resilience of the model grass *Brachypodium distachyon* colonized by *Bacillus subtilis* B26. **Plos One**. v. 10, n. 6, p. 1-23, 2015. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130456>.

GUSTAFSSON, J. P.; MWAMILA, L. B. & KERGOAT, K. The pH dependence of phosphate

sorption and desorption in Swedish agricultural soils. **Geoderma**, p. 189-190, 304–311. 2012. doi: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.05.014>.

HAM, B. K.; CHEN, J.; YAN, Y. & LUCAS, W. J. Insights into plant phosphate sensing and signaling. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 49, p. 1-9., 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.005>.

HAMEEDA, B. et al. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. **Microbiological Research**. v. 163, p. 234-242, 2008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.05.009>.

HAVLIN, J. L. et al. Fertilidade e fertilizantes do solo: uma introdução ao manejo de nutrientes. (7ª edição), **PHI Learning Private**, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. **Embrapa Soja. Documentos**, **283**, p. 80, 2007.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. & ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and Azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 791-801, 2013. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-012-0771-5>> Acesso: 15 jan. 2023.

HUNGRIA, M. & NOGUEIRA, M. A. Tecnologias de inoculação da cultura da soja: mitos, verdades e desafios. In: **Boletim de Pesquisa 2019/2020**, p. 50-62, 2019.

INAGAKI, A. M. et al. Phosphorus fertilization associated to inoculation of maize with diazotrophic bacteria. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 48, p. 3480-3487, 2014. doi: <https://doi.org/10.5897/AJAR2014.9103>.

IUSS Working Group WRB. **World reference base for soil resources 2014**, update 2015: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2015.

JASINSKI, S. M. Phosphate Rock. U.S. **Geological Survey, Minerals Commodity Summaries**; 2019. Disponível em: <<https://mineralsmakelife.org/wp-content/uploads/2019/03/mcs2019.pdf>> Acesso: 20 jan. 2023.

JORHI, A. K. et al. Fungal association and utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects. **Frontiers in Microbiology**, v.6, p. 984, 2015. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00984>.

KAISER, C. et al. Exploring the transfer of recent plant photosynthates to soil microbes: mycorrhizal pathway vs direct root exudation. **New Phytologist**, v. 205, p. 1537–1551, 2015. doi: <https://doi.org/10.1111/nph.13138>.

KAUL, S. et al. Engineering host microbiome for crop improvement and sustainable agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 1125, 2021. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.635917>.

KHAN, H. et al. Coupling phosphate-solubilizing bacteria (PSB) with inorganic phosphorus fertilizer improves mungbean (*Vigna radiata*) phosphorus acquisition, nitrogen fixation, and yield in alkaline-calcareous soil. **Heliyon**, v. 8, n. 3, e 09081, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09081>.

KHAN, M. A. et al. Halotolerant rhizobacterial strains mitigate the adverse effects of NaCl stress in soybean seedlings. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1-14, 2019. doi: <https://doi.org/10.1155/2019/9530963>.

KORIR, H. et al. Effect of co-inoculation of rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria on common bean growth in soil with low phosphorus content. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p.1–10, 2017. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00141>.

LIANG, C. et al. Control of phosphate homeostasis through gene regulation in crops. **Current Opinion in Plant Biolology**. v. 21, p. 59-66, 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.06.009>.

LIAO, H. et al. Phosphorus and aluminum interactions in soybeans in relation to aluminum tolerance. Exudation of specific organic acids from different regions of the intact root system. **Plant Physiology**, v. 141, p. 674-684, 2006. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.105.076497>.

LI, Y. X.; XU, M. & WANG, Y. G. L. A JAZ protein in *Astragalus sinicus* interacts with a leghemoglobin through the TIFY domain and is involved in nodule development and nitrogen fixation. **PLoS One**, v. 10, e0139964. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139964>.

LIANG, S. et al. A comparison between sulfuric acid and oxalic acid leaching with subsequent purification and precipitation for phosphorus recovery from sewage sludge incineration ash. **Water Research**, v. 159, p. 242-251, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.022>.

LIMA, C. S. et al. Inoculation with *Azospirillum brasilense* in corn cultivated on cover crops and nitrogen doses. **Symbiosis**, v. 87, p. 237–247, 2022. doi: <https://doi.org/10.1007/s13199-022-00870-z>

LINU, M. S. et al. Plant growth promoting traits of indigenous phosphate solubilizing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Chilli (*capsicumannuum L.*) Rhizosphere. *Commun. Soil Science Plant Analysis.*, v. 50, p. 444–457, 2019. doi: <https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1566469>.

LIU, J. et al. The chemical nature of soil phosphorus in response to long-term fertilization practices: Implications for sustainable phosphorus management, *Journal of Cleaner Production*, v. 7, p. 246, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123093>.

MARTINS, J. T. et al. Biological N fixation activity in soybean can be estimated based on nodule dry weight and is increased by additional inoculation. *Rizosphere*, v. 24, 100589, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100589>.

MEERT, L. et al. Diferentes inoculantes, formas de inoculação e seus efeitos sobre as características agronômicas da cultura da soja. *Research, Society and Development*, v. 9, n.10, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8499>.

MELCHIORRE, M. et al. Evaluation of bradyrhizobia strains isolated from field-grown soybean plants in Argentina as improved inoculants. *Biology And Fertility Of Soils*, v. 47, n. 1, p.81-89, 2010. doi: <https://doi.org/10.1007/s00374-010-0503-7>.

MENDES, G. O. et al. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. *Annals of Microbiology.* v. 64, p. 239–249, 2014. doi: <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0656-3>.

MENDONÇA, J. J. et al. Diversidade, mecanismos de atuação e potencial agrícola de bactérias promotoras de crescimento de plantas, usando milho como cultura exemplo. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, v. 25, n. 2, 2020. doi: <https://doi.org/10.12661/pap.2020.010>.

MENEZES-BLACKBURN, D.; GILES, C.; DARCH, T. et al. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review. *Plant Soil*, v. 427, p.5-16, 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3362-2>.

MADIGAN, M.T. et al. Microbiologia de Brock. 12. ed. *Artmed*, 2010. 1126 p.

MAMTA, G. et al. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. *Microbiological Research*, v. 167, p. 358-363, 2012. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.02.004>.

MAHANTA, D. et al. Influence of phosphorus and biofertilizers on growth and root properties of soybean and wheat. *Field Crops Research*, v. 166, p. 1 – 9, 2014. doi:

<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.06.016>.

MIRANDA, L. B. et al. Growth promoters in soybean crop. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 7, n. 2, p. 469–479, 2020.

MONNERAT, R. et al. Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura. **Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia**, p. 46, 2020.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2. ed. **Lavras: Ed. UFLA**, p.626, 2006.

NAIK, K. et al. Plant growth promoting microbes: potential link to sustainable agriculture and environment. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21; p. 101-326, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101326>.

NASR, E. M. et al. Comparative transcriptome analysis of nodules from two Mesorhizobium-chickpea associations with differential symbiotic efficiency under phosphate deficiency. **The Plant Journal**. v. 91, p. 911–926, 2017. doi: <https://doi.org/10.1111/tpj.13616>.

NIKOLAEV, Y. A. & PLAKUNOV, V. Biofilm “City of microbes” or an analogue of multicellular organisms? **Microbiology**, v. 76, n. 2, p. 125-138, 2007.

NOVAIS, R. F & SMYTH, T. J. Fósforo em solo e planta sob condições tropicais. **Raleigh: Universidade Federal de Viçosa – North Carolina State University**. p. 399, 1999.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. & NUNES, F. N. Fósforo. In: NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Cap. VIII. p. 472-552, 2007.

OLIVEIRA, C. A. et al. Viabilidade técnica e econômica do Biomaphos® (*Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119) nas culturas de milho e soja. **Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 2020.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M. et al. The culture medium volume and the inoculation method should be considered in semi-quantitative screening of calcium phosphate solubilization by bacteria. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 42, p. e44332, 2020. doi: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v42i1.44332>.

O’CALLAGHAN, M.; BALLARD, R. A. & WRIGHT, D. Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. **Soil Use and Management**, v. 38, p. 1340–1369, 2022. doi: <https://doi.org/10.1111/sum.12811>.

PANDE, P. et al. Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency in maize growth. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v.15, n.2, p. 379 – 391, 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.06.005>.

PARANI, K. & SAHA, B. Prospects of using phosphate solubilizing *Pseudomonas* as biofertilizer. **European Journal of Biological Sciences**, v.4, n.2, p. 40-44, 2012.

PAVINATO, P. S. et al. Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, 15615, 2020. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72302-1>.

PEREIRA, D. S.; COSTA, Y. K. S. & CARVALHO, L. B. O elemento P: formas e dinâmica em solos tropicais. **Revista Agronomia Brasileira**. v. 5, 2021. doi: <https://doi.org/10.29372/rab202124>.

POMPEU, D. C.; POZZEBON, B. C. & FIGUEIRA, A. dos R. Interações endofíticas com plantas hospedeiras. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 26, p. 96-112, 2018.

PORTER, J R. Antony van Leeuwenhoek: Tercentenary of his discovery of bacteria. **Bacteriology Reviews**, v. 40, n. 2, p. 260-269, 1976. doi: <https://doi.org/10.1128/br.40.2.260-269.1976>.

PEREIRA, D. S. et al. Availability and fractionation of phosphorus in soils with different physicochemical characteristics. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 14, 2020. doi: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v14i0.6811>.

PEREIRA, M. G. et al. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi Rhizobium and actinomycetes in the rhizosphere of soybean. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 12, p.1249-1256, 2013.

PRABHU, N.; BORKAR, S. & GARG, S. Phosphate solubilization by microorganisms: Overview, mechanisms, applications and advances. In S. N. Meena & M. M. Naik (Eds.), **Advances in Biological Science Research: A Practical Approach** (1st ed., pp. 161–176). 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817497-5.00011-2>.

PRICE, G. Fertilizer Industry Federation of Australia, **Australian Soil Fertility Manual**, e. 3, p. 167, 2006.

PUENTE, M. L. et al. Improvement of soybean grain nutritional quality under foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* strain Az39. **Symbiosis**, v. 77, n. 1, p. 41-47, 2019. doi: <https://doi.org/10.1007/s13199-018-0568-x>.

PURI, A.; PADDA, K. P. & CHANWAY, C. P. In vitro and in vivo analyses of plant-growthpromoting potential of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. **Applied Soil Ecology**, v. 149, p. 103-538, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103538>.

QIN, L. et al. The high-affinity phosphate transporter GmPT5 regulates phosphate transport to nodules and nodulation in soybean. **Plant Physiology**. v. 159, p. 1634–1643, 2012. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.112.199786>.

RADZKI, W. et al. Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. **Antonie Van Leeuwenhoek**. v. 104, p. 321-330, 2013. doi: <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9954-9>.

RAIJ, B. V. **Soil fertility and fertilization**. Piracicaba, International Plant Nutrition Institute, p.420, 2011.

RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R. & LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019.

ROTARU, V. I. & RISNOVEANU, L. Interactive effects of plant growth-promoting rhizobacteria and phosphates sources on growth and phosphorus nutrition of soybean under moderate drought. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**. v. 47, n. 3, p. 872-880, 2019. doi: <https://doi.org/10.15835/nbha47311371>.

RIBEIRO, V. P. et al. Endophytic Bacillus strains enhance pearl millet growth and nutrient uptake under low-P. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 49, p. 40-46, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.06.005>.

RICHARDSON, A. E. & SIMPSON, R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. **Plant Physiology**. v. 156, n. 3, p.989-996, 2011. doi: <https://doi.org/10.1104/PP.111.175448>.

ROCHA, W. S. et al. Acúmulo de biomassa em função de doses de fósforo e inoculação de rizóbio em feijão-caupi. **Cultura Agrônômica**. v.27, n.2, p.273-286, 2018. doi: <https://doi.org/10.32929/2446-8355.2018v27n2p273-286>.

RORIZ, Mariana et al. Legume biofortification and the role of plant growth-promoting 72 bacteria in a sustainable agricultural era. **Agronomy**. v. 10, n. 3, p. 435, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy10030435>.

ROSA, A.; CAPONI, L. H. & ZANÃO JÚNIOR, L. A. Disponibilidade de fósforo em um Latossolo Vermelho em função do pH do solo. **Acta Iguazu**. v.5, Edição Especial “I

seminário de Eng. De Energia na Agricultura”, p.108-115, 2016. doi: <https://doi.org/10.48075/actaiguaz.v5i5.15975>.

SCHAEFER, P. E. et al. Inoculation with *Azospirillum brasilense* on corn yield and yield components in an integrated crop-livestock system. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 41, e39481, 2019. doi: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v41i1.39481>.

SENTELHAS, P. C. et al. The soybean yield gap in Brazil-magnitude, causes and possible solutions for sustainable production. **Journal of Agricultural Science**, v. 1, p. 1-18, 2015. doi: <https://doi.org/10.1017/S0021859615000313>.

SANTOS, D. R. et al. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 576-586, 2008. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000200049>.

SMIT, A.L. et al. Phosphorus in agriculture: global resources, trends and developments. Report 282. Wageningen, The Netherlands: **Plant Research International**, 2009. Disponível em: <<https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/383557>>. Acesso: 11 mar. 2023.

SOUCHIE, E. L. et al. Solubilização de fosfatos em meio sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1149-1152, 2005. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005001100015>.

SOUCHIE, E. L. et al. Phosphate solubilization and synergism between P-solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 9, p. 1405-1411, 2006. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000900009>.

STAMFORD, N. P. et al. Effect of sulphur inoculated with *Thiobacillus* on saline soils amendment and growth of cowpea and yam bean legumes. **The Journal of Agricultural Science**, v. 139, p. 275-281, 2002. doi: <https://doi.org/10.1017/S0021859602002599>.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A. & HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**. v. 9, p. 1-22, 2019. doi: <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>.

SCHNUG, E. & HANEKLAUS, S. H. The enigma of phosphorus fertilizer utilization. In book: Fósforo na Agricultura: 100% Zero; **Springer: Dordrecht**, p. 7-26, 2016. doi: https://doi.org/10.1007/978-94-017-7612-7_2.

SCHWAAB, E. F. & AGUIAR, C. G. Interação de inoculantes nitrogenados com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis* em soja. **Revista Cultivando o Saber**. V. edição especial, p.

24-32, 2019. Disponível em:
<<https://cultivandosaber.fag.edu.br/index.php/cultivando/article/download/966/887>> Acesso:
20 jan. 2023.

SILVA, J. V. de S. et al. A. Adubação fosfatada no feijoeiro cultivado sob palhada de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Revista Ceres**, v. 65, n.2, p. 181-188, 2018. doi: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201865020010>.

SUBRAMANIAN, P. et al. Endophytic bacteria improve nodule function and plant nitrogen in soybean on co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* MN110. **Plant Growth Regulation**. v. 76(3), p. 327-332, 2014. doi: <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9993-x>.

TAIZ, L. et al. Fisiologia e desenvolvimento vegetal diversidade vegetal. **Artmed**, 6. ed. 888P, 2016.

TANG, Y. et al. Significance of manganese resistant bacillus cereus strain WSE01 as a bioinoculant for promotion of plant growth and manganese accumulation in *Myriophyllum verticillatum*. **Science of The Total Environment**, v. 707, 136867, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135867>.

TEIXEIRA, W. G.; SOUSA, R. T. X. & KORNDÖRFER, G. H. Response of sugarcane to doses of phosphorus provided by organomineral fertilizer. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 6, p. 1729-1736, 2014.

TRABELSI, D. et al. Fertilization of *Phaseolus vulgaris* with the Tunisian rock phosphate affects richness and structure of rhizosphere bacterial communities. **Applied Soil Ecology**, v. 114, p. 1–8, 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.11.014>.

VACCARI, D. A. Phosphorus: a looming crisis. **Scientific American**, v. 300, n. 6, p. 54-9, 2009. doi: <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0609-54>.

VAN KAUWENBERGH, S. J. World Phosphate Rock Reserves and Resources. Muscle Shoals: **International Fertilizer Development Center (IFDC)**, v.553, 48 p., 2010.

VAN VUUREN, D. P.; BOUWMAN, A. F. & BEUSEN, A. H. W. Phosphorus demand for the 1970–2100 period: A scenario analysis of resource depletion. **Global Environmental Change**, v. 20, p. 428-439, 2010. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2010.04.004>.

VAN de WIEL, C. C. M.; VAN DER LINDEN, C. G. & SCHOLTEN, O. E. Improving phosphorus use efficiency in agriculture: opportunities for breeding. **Euphytica**, v. 207, p. 1-22, 2016. doi: <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1572-3>.

VASSILEV, N. & VASSILEVA, M. Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, p. 435–440, 2003. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1318-3>.

VENIERAKI, A. et al. The genetic diversity of culturable nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of wheat. **Microbial Ecology**, v. 61, n. 2, p. 277–285, 2010. doi: <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9747-x>.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, n. 2, p. 571–586, 2003. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>.

VERMA, S. K. & WHITE, J. F. Indigenous endophytic seed bacteria promote seedling development and defend against fungal disease in browntop millet (*Urochloa ramosa* L.). **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 764–778, 2018. doi: 10.1111/jam.13673. PMID: 29253319.

WANG, H. Y. et al. Preparation and utilization of phosphate biofertilizers using agricultural waste. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 14, p. 158–167, 2015. doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60760-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60760-7).

WU, P. et al. Low phosphorus and competition affect Chinese fir cutting growth and root organic acid content: does neighboring root activity aggravate P nutrient deficiency? **Journal of Soils and Sediments**, v. 17, p. 2775–2785, 2017. doi: <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1852-8>.

XU, Q. et al. Free ammonia-based pretreatment enhances phosphorus release and recovery from waste activated sludge. **Chemosphere**, v. 213, p. 276–284, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.048>.

XUE, Y. et al. Genome Wide Transcriptome Analysis Reveals Complex Regulatory Mechanisms Underlying Phosphate Homeostasis in Soybean Nodules. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 19, p.924, 2018. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms19102924>.

YOUSUF, J. et al. Nitrogen fixing potential of various heterotrophic *Bacillus* strains from a tropical estuary and adjacent coastal regions. **Journal of Basic Microbiology**, v. 57, n. 11, p. 922–932, 2017. doi: <https://doi.org/10.1002/jobm.201700072>.

ZHANG, N. et al. Whole transcriptomic analysis of the plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 during enhanced biofilm formation regulated by maize root exudates. **BMC Genomics**, v. 16, p. 685, 2015. doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1825-5>.

ZHOU, Y. et al. Management of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* with combinations of different rhizobacterial strains on soybean. **PloS One**, v. 12, n. 8, p. e0182654, 2017. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194287>.

ZHU, J. et al. Mobile breast cancer esupport program for Chinese women with breast cancer undergoing chemotherapy (part 1): qualitative study of women's perceptions. **JMIR Mhealth Uhealth**, v. 6, n. 4, e85, 2018. doi: <https://doi.org/10.2196/mhealth.9311>.

4 CAPÍTULO 2 – CAPACIDADE DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO POR BACTÉRIAS NA CULTURA DA SOJA

Resumo: O fósforo é um elemento pouco móvel e facilmente adsorvido aos coloides do solo, fixado nos minerais primários e secundários ou ainda, imobilizados na matéria orgânica ou na microbiota do solo. Grande quantidade de fertilizantes fosfatados tem sido utilizados nas áreas agrícolas, porém, apenas uma pequena parte está sendo aproveitada pelas plantas. Desta forma, são necessárias alternativas para um melhor aproveitamento do fósforo no solo e com isso, reduzir custos na lavoura de soja. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a capacidade de solubilização de fosfato por bactérias promotoras de crescimento, bem como, os benefícios destas para a cultura da soja. Foram realizados dois experimentos, sendo um em casa de vegetação e outro em laboratório. Na casa de vegetação, avaliaram-se a coinoculação com as bactérias *Bradyrhizobium japonicum* (Brady), Brady + *Pseudomonas fluorescens*, Brady + *Bacillus megaterium*/*Bacillus subtilis* e Brady + *Bacillus subtilis* em quatro doses de fósforo (0; 23,01; 57,52 e 138,04 mg L⁻¹ de NH₄H₂PO₄). Como variáveis respostas verificou-se a massa seca de raízes e a concentração de P nas folhas. Em laboratório utilizou-se quatro bactérias sendo elas, *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis*/*Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens* e Bac 71 e, foram avaliadas quanto a capacidade de solubilização destas bactérias utilizando meio NBRIP sólido. Os resultados obtidos em casa de vegetação apresentaram melhor resposta na concentração de P nas folhas, conforme aumentou-se as doses de fósforo na solução nutritiva, sendo que para massa seca de raiz (gramas) este resultado também foi positivo com o aumento na concentração de fósforo de 2,37 gramas na dose de 138,036 mg L⁻¹ no tratamento controle, para 4,77 gramas quando utilizado *B. japonicum* com *Bacillus subtilis*. No teste de solubilização em laboratório, a bactéria *Bacillus subtilis* foi a que se apresentou com maior índice de solubilização de fosfato, sendo esta, considerada uma alternativa para melhor aproveitamento deste nutriente no solo.

Palavras-chave: Solubilização, *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis*.

4.1 INTRODUÇÃO

O fósforo é um elemento essencial para as plantas, participando de componentes importantes na planta como nucleotídeos como fonte de energia (ATP). O fósforo interfere nos processos de fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão celular e crescimento das células vegetais, ou seja, participa diretamente dos processos que auxiliam no crescimento e desenvolvimento vegetal (LI et al., 2017; LU et al., 2016).

A principal fonte de fósforo para agricultura é através da extração de rochas fosfáticas, porém estas são esgotáveis e possuem elevado custo para produção de fertilizantes fosfatados. Pesquisas realizadas, indicam que o pico na produção de fertilizantes fosfatados será nos próximos 30 anos e há uma tendência de esgotamento das rochas fosfáticas nos próximos 50 a 100 anos (HERRING & FANTEL, 1993). Os países que detém em conjunto, aproximadamente 85% das reservas de rochas fosfáticas do mundo são Marrocos, Estados Unidos da América, Jordânia, África do Sul e China (PANTANO et al., 2016). De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Tecnologia em Nutrição Vegetal (ABISOLO, 2018), o Brasil produz apenas 3% dos fertilizantes fosfatados no mundo, sendo dependente das importações para suprir a demanda das culturas em fósforo.

Na busca por elevadas produtividades, há grande quantidade de fertilizantes minerais sendo aplicados nos solos e, a utilização do fósforo (P) possui elevado custo para a agricultura. Ainda, parte deste é absorvido e extraído pelas plantas e parte é convertido em complexos insolúveis que ficam indisponíveis, além dos problemas ambientais pelo excesso de P no solo. Com isso, são necessárias alternativas para converter este nutriente para a forma solúvel, aproveitando o P de forma mais econômica e racional.

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPC) têm sido pesquisadas, por atuarem por diversos mecanismos como, formação de biofilme, fixação de nitrogênio, produção de fitohormônios, entre outros (ANSARI et al., 2019). Além de promover o crescimento e desenvolvimento de plantas, as bactérias também são capazes de disponibilizar fosfatos no solo, tornando este, disponível para as plantas (FERREIRA et al., 2019). Além de solubilizar fosfato de cálcio, mecanismo adequado para solos alcalinos, os microrganismos do solo podem, também, solubilizar fosfato de ferro, de alumínio, de magnésio e outros em ambientes ácidos (CHAGAS JR et al., 2010; GYANESHWAR et al., 2002; VESSEY, 2003).

Muitos são os microrganismos que vêm sendo estudados como possíveis solubilizadoras de fosfato (BSF). Muitos já foram comprovados com pesquisa em relação a sua capacidade de solubilização, como por exemplo, bactérias do gênero *Bacillus* e *Pseudomonas* (ABERATHNA et al., 2022).

Já existem no mercado alguns produtos comerciais com bactérias solubilizadoras (*Bacillus megaterium* CNPMS B119 (BRM033112), *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 (BRM034840), *Pseudomonas fluorescens* (Estirpe CCTB03)), porém, outras bactérias e metodologias devem ser pesquisadas para melhorar as aplicações dos microrganismos como possíveis solubilizadoras na cultura da soja. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar os benefícios da utilização de bactérias promotoras de crescimento e solubilizadoras de fosfato na cultura da soja.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Casa de vegetação

O experimento foi conduzido em casa de vegetação em sistema hidropônico no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Sementes de soja cultivar NS5959 IPRO foram inoculadas com os microrganismos nos devidos tratamentos, e semeadas em bandejas contendo substrato, sendo estas mantidas em casa de vegetação com disponibilidade hídrica diária, para que ocorra a germinação. Após duas semanas, plântulas uniformes foram transplantadas para o sistema hidropônico, composto por um balde de oito litros contendo solução nutritiva.

Tabela 6: Tratamentos do experimento em hidroponia, utilizando os produtos comerciais.

Fator A (Microrganismos)	Fator D (Doses de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)
T1-Brady* (100mL)	0 mg L ⁻¹
T2-Brady (100mL) + <i>Pseudomonas fluorescens</i>	23,01 mg L ⁻¹
T3-Brady (100mL) + <i>Bacillus megaterium</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	57,52 mg L ⁻¹
T4-Brady (100mL) + <i>Bacillus subtilis</i>	138,04 mg L ⁻¹

*Brady-*Bradyrhizobium japonicum*.
 Todos os microrganismos foram utilizados no tratamento de sementes, na dose de 100 mL para cada 50 kg de sementes.

A solução nutritiva utilizada foi de acordo com Hoagland e Arnon (1950), sendo que a solução foi constituída conforme a composição apresentada na tabela abaixo. As fontes de macronutrientes (Tabela 7) utilizadas foram: fosfato de amônio monobásico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), nitrato de potássio (KNO_3), nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), sulfato de magnésio (MgSO_4) e fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e de micronutrientes Sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), cloreto de manganês ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), sulfato de zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), sulfato de níquel ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), ácido mangânico (H_2MnO_4) e ácido bórico (H_3BO_3) conforme apresentado na tabela 8.

Tabela 7: Concentração em mg L^{-1} dos macronutrientes na solução nutritiva em sistema hidropônico.

	KNO_3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	MgSO_4	KH_2PO_4	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
T1-T4	505,5	432,2	246,4	68,05	0
T1-T4	434,73	432,2	246,4	136,1	23,006
T1-T4	414,51	432,2	246,4	190,54	57,515
T1-T4	414,51	432,2	246,4	190,54	138,036

*O pH da solução foi mantido à 5,8 e a solução foi substituída a cada cinco dias.

Onde: T1-T4 Corresponde os quatro tratamentos com microrganismos nas diferentes doses de fósforo.

Tabela 8: Concentração em mg L^{-1} dos micronutrientes na solução estoque em sistema hidropônico.

	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	H_2MnO_4	H_3BO_3
Estoque Micro	0,031	0,103	0,149	0,012	0,024	0,401

*A solução estoque de micronutrientes, foi adicionada na quantidade de 0,1 mL por litro de solução nutritiva.

Foi adicionado 1 mg de ferro quelatizado para cada litro de solução nutritiva, sendo que 20 mg de Ferro corresponde a 5% deste elemento.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em um bifatorial com quatro tratamentos (bactérias) e quatro doses de fósforo, com três repetições, sendo que cada repetição foi composta de quatro plantas, as quais foram conduzidas até o estádio R2 (plena floração), sendo posteriormente coletadas para realização das análises.

As variáveis analisadas foram, massa seca da raiz (MSRA, g planta⁻¹), onde raízes de quatro plantas por repetição foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar em estufa de circulação de ar forçada a 60° C até atingir massa constante para posterior pesagem. Avaliou-se também o teor de P no tecido foliar. Para esta avaliação foram coletadas 35 folhas trifolioladas por tratamento, no estágio R2 (plena floração), sendo estas acondicionadas em sacos de papel e, posteriormente encaminhadas para o Laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal de Santa Maria para realização das análises.

4.2.2 Seleção de bactérias solubilizadoras de fosfatos em meios de cultivo

O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Foram utilizados quatro microrganismos para verificar a capacidade dos isolados de solubilizar fósforo em duas datas de avaliação com três repetições. Os microrganismos utilizados foram T1-*Bacillus subtilis*; T2-*Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium*; T3-*Pseudomonas fluorescens* e T4-Bac 71.

A partir dos produtos comerciais utilizados, realizou-se a contagem inicial dos microrganismos, sendo que esta contagem foi realizada através da diluição seriada que é um método que amplifica o fator de diluição. Para isso, utilizou-se tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina (8,5 % NaCl), retira-se uma alíquota de 1 mL da amostra inicial (produto) e coloca-se no primeiro tubo, sendo este, diluição 10⁻¹. Posteriormente retira-se uma amostra de 1 mL desta diluição e transfere-se para 10⁻² e assim sucessivamente até a diluição 10⁻⁹. Após, amostras de 0,1 mL de cada diluição foram espalhadas em placas de petri contendo meio de cultura caldo nutritivo ágar (extrato de carne 3 g, peptona 10 g, glicose 2,5 g e 16 g de ágar para 1L de água destilada).

As placas foram mantidas em BOD a 28°C sem fotoperíodo por 15 dias, sendo a que primeira contagem dos microrganismos de interesse e dos contaminantes foi realizada 12 horas após a inoculação (Tabela 9), a fim de que as colônias não tomem conta da placa impossibilitando a contagem. Após isso, realizou-se as contagens de 12 em 12 horas. Para o correto procedimento, as placas que apresentaram de 20 a 400 colônias, foram contadas apresentando diluições diferentes para os microrganismos de interesse.

Tabela 9: Índice de unidades formadoras de colônias *in vitro* entre as bactérias solubilizadoras de fosfato 12 horas após inoculação, contendo as bactérias *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* + *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* e BAC 71 em meio de cultura.

Microrganismo	Total de UFC / mL
T1 – <i>Bacillus subtilis</i>	5,00x10 ⁷
T2 – <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus megaterium</i>	1,08x10 ⁹
T3 – <i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,14x10 ⁸
T4 – BAC 71	1,21x10 ⁸

O meio de cultura utilizado para realizar a avaliação de solubilização foi o NBRIP sólido (NAUTIYAL et al., 1999): 10 g de glicose; 5 g de hidroxapatita de cálcio (Ca₅ (OH) (PO₄)₃); 5 g de cloreto de magnésio (MgCl₂ 6H₂O); 0,25 g de sulfato de magnésio (MgSO₄ 7H₂O); 0,2 g de cloreto de potássio (KCl); 0,1 g de sulfato de amônio ((NH₄)₂ SO₄); 1,5% de ágar e pH 7,0 para volume total igual a 1L, sendo que este meio foi feito para suprir uma demanda de 20 mL por placa.

Para a avaliação da solubilização de fosfato em laboratório, adotou-se a técnica da formação do halo. A medida do diâmetro (ϕ) do halo de solubilização, percebido como uma área translúcida ao redor da colônia foi mensurada com a utilização de um paquímetro digital. A partir da obtenção da medida foi determinado o índice de solubilização de fosfato (IS) de cada isolado por meio da fórmula: $IS = \phi \text{ Halo (mm)} / \phi \text{ Colônia (mm)}$, descrito por Hara e Oliveira (2004). De acordo com Silva Filho e Vidor (2000), a solubilização foi classificada como baixa solubilização ($IS < 2$), média solubilização ($2 \geq IS \leq 4$) e alta solubilização ($IS > 4$). Foram realizados quatro tratamentos de bactérias e três repetições. O halo e a colônia da bactéria formada, foram medidos aos três dias após a inoculação, utilizando-se um paquímetro digital, e depois aos 17 dias.

Para realização da análise do teor de fósforo nas folhas, foram utilizadas todas as folhas do experimento em hidroponia, não permitindo realizar a análise estatística para esta variável.

Para analisar a massa seca de raízes, os dados foram submetidos ao atendimento das pressuposições do modelo matemático (STEEL et al., 1997), posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando significativos, realizou-se análise de regressão para as doses de P, e teste de comparação de médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade para as

inoculações, observando as interações. As análises foram realizadas com o auxílio do software estatístico Sisvar® (FERREIRA, 2011).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados obtidos no experimento em casa de vegetação, pode-se visualizar a relação dos diferentes tratamentos com bactérias e doses de P na solução nutritiva, em relação a concentração de fósforo no tecido foliar da cultura da soja (Figura 17). Verifica-se que quando não se utiliza fósforo na solução, tem-se a menor concentração de P no tecido foliar para todos os tratamentos com os diferentes microrganismos, porém, quando é introduzido o P na solução a partir de 23,01 mg L⁻¹ já se observam algumas respostas diferentes.

Considerando a dose de 23,01 mg L⁻¹ de P, o tratamento com *B. japonicum* + *P. fluorescens* (T2) mostrou maior resposta em teor de P na folha, porém, para dose 57,62 mg L⁻¹ os tratamentos controle (T1) e *B. japonicum* + *B. megaterium* e *B. subtilis* (T3) foram melhores. Quando utilizada a maior dose de P (138,04 mg L⁻¹), todos os tratamentos com *B. japonicum* acrescidos com alguma bactéria solubilizadora, apresentaram maior concentração de P no tecido foliar.

Estes resultados nos mostram a importância da presença de fósforo no meio, para que ocorra resposta dos microrganismos solubilizadores de fosfatos. O inverso também é verdadeiro, sendo que Withers et al. (2018) relatam que a forma mais eficiente de acesso do P pelas plantas, é através da presença de microrganismos que absorvem e imobilizam o fósforo, liberando este de forma gradativa no solo. Outros autores também mostram que a utilização de microrganismos solubilizadores de fosfatos com a adubação fosfatada, aumentam a atividade enzimática microbiana além da ciclagem de nutrientes (BATISTA et al. & DINIZ et al., 2016).

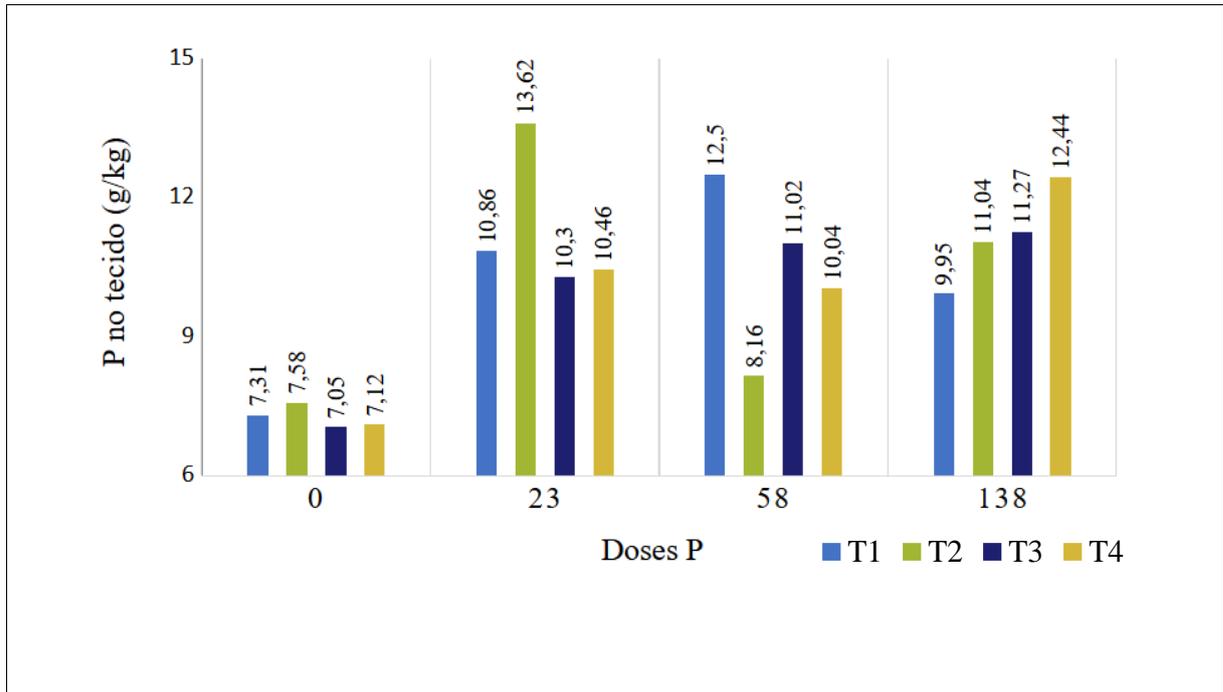


Figura 17: Teor de fósforo na parte aérea (g kg^{-1}), nas diferentes doses de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (0; 23,01; 57,52 e 138,04 mg L^{-1}) em relação aos tratamentos com bactérias em hidroponia. Onde: T1-*B. japonicum*, T2-*B. japonicum* + *P. fluorescens*, T3-*B. japonicum* + *B. megaterium* e *B. subtilis* e T4-*B. japonicum* + *B. subtilis*

Conforme apresentado na figura 18, todos os tratamentos utilizando *B. japonicum* com alguma outra bactéria promotora de crescimento, responderam positivamente em massa seca de raízes com o aumento nas doses de fósforo. Utilizando apenas *B. japonicum*, a MSRA apresentou resultado contrário, conforme se deu o aumento das doses de fósforo, ocorreu redução na MSRA.

Percebe-se com estes resultados, que a utilização de microrganismos promotores de crescimento, neste caso, as bactérias *B. subtilis*, *B. megaterium* e *P. fluorescens*, com a fixadora de nitrogênio *B. japonicum*, permitem maior crescimento de raízes sendo que estas bactérias foram avaliadas em relação a sua capacidade de solubilização de fosfatos em um próximo experimento em laboratório.

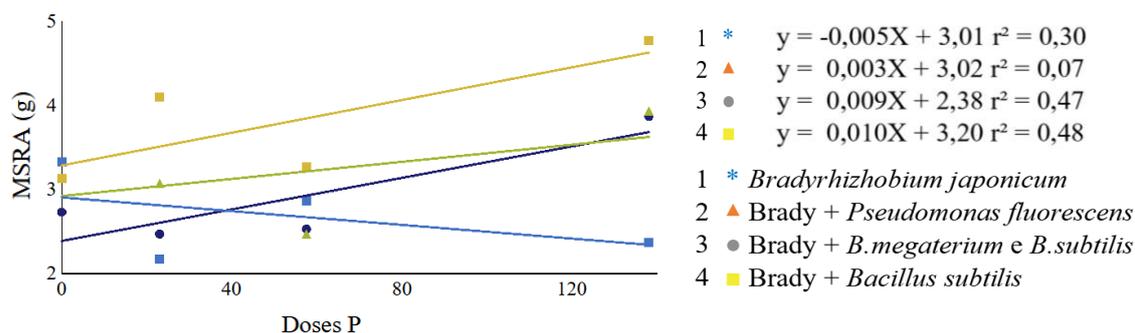


Figura 18: Massa seca de raiz (gramas), nas diferentes doses de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (0; 23,01; 57,52 e 138,04 mg L^{-1}) em relação aos tratamentos com bactérias em hidroponia.

A utilização de bactérias solubilizadoras de fósforo (BSF), vêm demonstrando em várias pesquisas respostas positivas como maior altura de plantas, maior rendimento de grãos e ainda, maior absorção do fósforo em várias culturas como no milho e trigo (O'CALLAGHAN et al., 2022). Porém, nem sempre a utilização de BSF apresentam diferenças em relação ao crescimento e desenvolvimento das plantas. Mattos (2020), utilizaram BSF via solo nas culturas de trigo e soja e observaram, que não houve diferença estatística entre estes tratamentos e a testemunha, porém, pode ocorrer diferenças quando se trabalha com doses de P. Silva Júnior et al. (2017), verificaram que houve aumento na altura de plantas em resposta ao aumento nas doses de P no solo.

Silva et al. (2022), verificaram que utilização de *B. subtilis* com redução da dose recomendada de P, no caso da cultura do milho, aumentou o conteúdo de clorofilas e consequentemente a produção de massa seca na cultura. *Bacillus subtilis* podem excretar fitohormônios como ácido-3-acético (AIA), além de estimular sítios de mitose em raízes, favorecendo o crescimento radicular (FAGAN et al., 2015).

A utilização de microrganismos do gênero *Pseudomonas* vêm sendo estudado como microrganismos benéficos, os quais promovem o crescimento de plantas, aumentam a tolerância destas às doenças, e ainda, aumentando a disponibilidade de nutrientes no solo (CHANDRA et al., 2020; COSTA-GUTIERREZ et al., 2020). Silva e Pires (2017) relatam que a resposta na utilização de BSF e microrganismos promotores de crescimento, é maior em condições ambientais restritas e adversas, principalmente falando em estresse nutricional e hídrico.

Na tabela 10, estão os resultados obtidos nos testes de solubilização em laboratório. Percebe-se que, o índice de solubilização dos isolados variou em relação ao tempo e ao isolado utilizado, apresentando valores entre 0,28 e 2,04. Os tratamentos com microrganismos *B. subtilis* + *B. megaterium* (T2), *P. fluorescens* (T3) e BAC 71 (T4), foram considerados baixos solubilizadores, demonstrando índices entre zero e 1,38. O isolado de *B. subtilis* (T1), foi considerado como solubilizador médio, com índices de 2,04 na avaliação de 17 dias após incubação.

Tabela 10: Índice de solubilização de fosfato (IS= Diâmetro do halo (mm) / Diâmetro da colônia (mm)) por isolados de *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis/Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens* e BAC 71, em duas datas de avaliação.

Bactérias	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis/B. megaterium</i>	<i>P. fluorescens</i>	Bac71
∅ halo (mm) 3 Dias	11,77	0	23,90	23,85
∅ colônia (mm) 3 Dias	10,38	15,77	19,91	17,43
IS (3 dias)	1,13	0	1,20	1,37
∅ halo (mm) 17 Dias	23,84	6,26	30,03	25,22
∅ colônia (mm) 17 Dias	11,67	22,66	23,11	18,33
IS (17 dias)	2,04	0,28	1,30	1,38

Legenda: ∅ = Diâmetro.

Considerando biosolubilização baixa e média dos microrganismos testados, mesmo assim, pode-se visualizar na figura 19, que ocorre interação com o meio formando o halo de solubilização. Existe uma interação muito intensa ao redor das raízes com os exsudatos, microrganismos e solo (ZHANG et al., 2018; VIVES-PERIS et al., 2018). Muitos pesquisadores já comprovaram os benefícios dos microrganismos, seja através da produção de exsudatos radiculares, melhor condição fitossanitária, redução de custos, maior produtividade, entre outros benefícios (MENNA et al., 2017; ÁVILA, 2019; SANTOS et al., 2020). Porém, a eficiência dos microrganismos utilizados, dependem de fatores como disponibilidade de água, oxigênio, temperatura e pH adequados (SINGH et al., 2011).

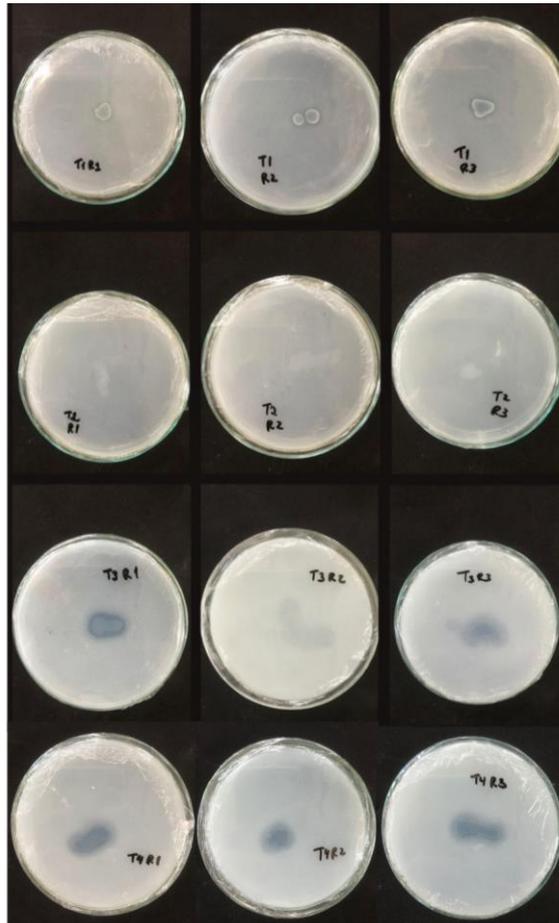


Figura 19: Bactérias biosolubilizadoras de fósforo em meio de cultivo formando halo de solubilização aos 17 dias.

Além da capacidade de biosolubilização de alguns microrganismos, bactérias como do gênero *Bacillus*, sintetizam hormônios radiculares como o ácido indolacético (AIA), o qual aumenta a área radicular, permitindo uma maior exploração das raízes, e conseqüentemente maior absorção de água e nutrientes (BABALOLA, 2010). Porém, outros gêneros como *Pseudomonas*, *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, induzem a promoção de pelos radiculares através do estímulo para multiplicação celular (BULGARELLI et al., 2013).

Existem muitos mecanismos capazes de auxiliar no processo de solubilização de fosfatos no solo, tornando o fósforo inorgânico em orgânico, deixando este disponível para as plantas. A produção de sideróforos e ácidos orgânicos são exemplos destes mecanismos, os

quais resultam no aumento da secreção de enzimas (RANA et al., 2020; PURI et al., 2020; LI et al., 2018; LIANG et al., 2016; PARK et al., 2011).

Bactérias do gênero *Bacillus*, têm sido as mais pesquisadas como solubilizadoras de fosfato. Nesta pesquisa, a bactéria *B. subtilis* de forma isolada foi a que resultou média capacidade de solubilização (2,04), sendo que as demais bactérias (*B. subtilis* com *B. megaterium* e *P. fluorescens*) essa capacidade foi baixa, conforme Hara e Oliveira (2004). Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores como Husain et al. (2013), onde, obtiveram resultados positivos de solubilização utilizando *Bacillus* sp. e também para *P. fluorescens*.

Sánchez Lopes et al. (2014) utilizaram três cepas de *Pseudomonas* sp., e, verificaram que estas bactérias possuem capacidade de produzir indóis, sideróforos e solubilizar fósforo em fontes menos solúveis. Buono e Ulla (2016) quantificaram fosfato tricálcico em meio líquido NBRIP e, mostraram que *P. fluorescens* solubilizou maior quantidade de fosfatos em relação às demais bactérias em todos os tempos analisados. Bashan et al. (2012) relatam que para uma bactéria ser considerada solubilizadora, ela precisa, além de solubilizar fosfato tricálcico, também solubilizam fosfato de ferro e/ou alumínio.

4.4 CONCLUSÃO

A utilização das bactérias *B. subtilis*, *B. megaterium* e *P. fluorescens*, aumentaram a concentração de fósforo nas folhas de soja e ainda, aumento na massa seca de raízes de soja, quando se aumentou as doses de P na solução nutritiva.

A bactéria *B. subtilis* foi a que apresentou maior índice de solubilização de fosfato, sendo esta, considerada uma alternativa para aumentar a disponibilidade de fósforo no solo.

REFERÊNCIAS

ABERAYHNA, A. A. A. U. et al. Increasing the Bioavailability of Phosphate by Using Microorganisms. **Hindawi International Journal of Agronomy**. v. 2022, 4305501, p. 17, 2022. doi: <https://doi.org/10.1155/2022/4305501>.

ABISOLO-Associação Brasileira das Indústrias de Tecnologia em Nutrição Vegetal. Anuário brasileiro de tecnologia em nutrição vegetal 2018. **Anuário Abisolo**, 179 p., 2018.

AGUADO-SANTACRUZ, G. A. Uso de microorganismos como biofertilizantes. En: Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura. **Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)**, p. 35-78., 2012.

ANSARI, F. A., AHMAD, I., & PICHTEL, J. Growth stimulation and alleviation of salinity stress to wheat by the biofilm forming *Bacillus pumilus* strain FAB10. **Applied Soil Ecology**, v. 143, p. 45–54, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.05.023>.

Trabalho de conclusão de curso: ÁVILA, Z. N. B. **Efeitos da utilização de microrganismos eficientes (EM) sobre a cultura de milho (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé orgânico**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/11054> Acesso: 10 jan. 2023.

BABALOLA, O. O. Beneficial bacteria of agriculture importance. **Biotechnology of Letter**, v. 32, n. 11, p. 1559-1570, 2010. doi: <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0347-0>.

BARROSO, C. B. & NAHAS, E. Solubilização de fosfatos de ferro em meio de cultura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 529-535, 2008. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000400012>.

BATISTA, F. C. et al. Atividade microbiana do solo em cultivo de milheto adubado com fertilizantes organominerais enriquecidos com microrganismos e submetidos a diferentes temperaturas de secagem. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 32; Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 16; Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo, 14; Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 11. Rumo aos novos desafios: [anais]. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Fertbio, p. 1010, 2016.

BEHBAHANI, B.A. et al. Principle component analysis (PCA) for investigation of relationship between population dynamics of microbial pathogenesis, chemical and sensory characteristics in beef slices containing Tarragon essential oil. **Microbial Pathogenesis**, v.105, p.37-50, 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.02.013>.

BERRAQUERO, F.R.; BAYA, A.M. & CORMENZANA, A.R. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **Ars Pharmaceutica**, v.17, p. 399-406, 1976.

BISSANI, C. A. et al. Fertilidade dos Solos e Manejo da Adubação de Culturas. 2ª ed., 2008.

BRAGA JUNIOR, G. M. et al. Efficiency of inoculation by *Bacillus subtilis* on soybean biomass and productivity. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.13, n.4, 2018. doi: <https://doi.org/10.5039/AGRARIA.V13I4A5571>.

BRUM, M. S. et al. Components of corn crop yield under inoculation with *Azospirillum brasilense* using integrated crop-livestock system. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 4, p. 485-492, 2016. doi: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i4.30664>.

BULGARELLI, D. et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 807-838, 2013. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>.

BUONO, N. I. & ULLA, E. L. Efectos de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.) en condiciones controladas. **Revista Agronômica Noroeste Argentino**, v. 36 p. 45-54, 2016.

CARAFFA, M. et al. Indicações Técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2018/2019 e 2019/2020. **Reunião de Pesquisa de Soja da Região Sul e em Santa Catarina**. 105 p., 2019.

CEPEA, Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada e CNA, Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, **Informativo Trimestral sobre custos de produção agrícola**, 2019.

CHAGAS JR, A. F. et al. Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 359-366, 2010. doi: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i2.3185>.

CHAGAS, L. F. B. et al. *Bacillus subtilis* e *Trichoderma sp.* no incremento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz. **Revista Agri-Environmental Scieces**, v. 3, n. 2, 2017. doi: <https://doi.org/10.36725/agries.v3i2.430>.

CHANDRA, H. et al. Plant growth promoting *Pseudomonas aeruginosa* from *Valeriana wallichii* displays antagonistic potential against three phytopathogenic fungi. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 8, p. 6015-6026, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05676-0>.

CORDELL, D., DRANGERT, J-O. & WHITE, S. The story of phosphorus: global food security and food for thought. **Global Environmental Change**, v. 19, n. 2, p. 292- 305, 2009. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>.

COSTA-GUTIERREZ, S. B. et al. Plant growth promotion by *Pseudomonas putida* KT2440 under saline stress: role of eptA. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 10, p. 4577-4592, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10516-z>.

CQFSRS/SC, Comissão de Química e Fertilidade do Solo- RS/SC. **Manual de Calagem e Adubação para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo- Núcleo Regional Sul, 2016.

DINIZ, G. F. D. et al. Avaliação da atividade enzimática em cultivo de milho adubado com fertilizantes organominerais. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 32; Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 16; Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo, 14; Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 11, Goiânia, Rumo aos novos desafios: [anais]., Viçosa – MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Fertbio, 2016.

FAGAN, E. B. et al. **Fisiologia Vegetal: Reguladores Vegetais**. Organização Andrei Editora. São Paulo, 2015.

FAO STATISTICAL YEARBOOK, **World food and agriculture**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, p. 307, 2013.

FEHR, W. R. & CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, p. 11, 1977.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, M. J., SILVA, H., & CUNHA, A. Siderophore-producing rhizobacteria as a promising tool for empowering plants to cope with iron limitation in saline soils: a review. **Pedosphere**, v. 29, p. 409–420, 2019. doi: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(19\)60810-6](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(19)60810-6).

FIESP. **Projeções para o agronegócio brasileiro**. Federação das Indústrias de São Paulo. nOutlook FIESP, 2014.

GAGNÉ-BOURQUE, F. et al. Accelerated Growth Rate and Increased Drought Stress Resilience of the Model Grass *Brachypodium distachyon* Colonized by *Bacillus subtilis* B26. **Plos One**, v. 10, n. 6, e0130456, 2015. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130456>.

GOLDSTEIN, A. H. & KRIHNARAJ, P. U. Phosphate solubilizing microorganisms vs phosphate mobilizing microorganisms: what separates a phenotype from a trait? Developments in plant and soil science. **First International Meeting on Microbial**

Phosphate Solubilization, v. 102, p. 203-213, 2007. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5765-6_31.

GUANG-CAN, T. et al. Phosphate solubilizing and mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. **Pedosphere**, v.18, p. 515-523, 2008. doi: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60042-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60042-9).

GYANESHWAR, P. et al. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plant. **Plant and Soil**, v. 245, p. 83-93, 2002. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1020663916259>.

HARA, F. A. dos S. & OLIVEIRA, L. A. de. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 3, p. 343-357, 2004. doi: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672004000300002>.

HERRING, J. R. & FANTEL, R. J. Phosphate rock demand into the next century: impact on world food supply. **Natural Resources Research**, v. 2, p. 226–246, 1993. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02257917>.

HOAGLAND, D. R. & ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soil**. The College of Agriculture, University of California, p. 347, 1950.

HOLANDA, J. S. et al. Eficiência de extratores de fósforo para um solo adubado com fosfatos e cultivado com arroz. **Scientia Agricola**, v. 52 (3), p. 561-568, 1995. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-90161995000300025>.

HUSSAIN, I. M. et al. Impact of phosphate solubilizing bacteria on growth and yield of maize. **Soil & Environment**, v. 32 (1), p. 71-78, 2013.

KAUR, G. & REDDY, M. S. Effects of phosphate-solubilizing bacteria, rock phosphate and chemical fertilizers on maize-wheat cropping cycle and economics. **Pedosphere**, v. 25, p. 428-437, 2015. doi: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)30010-2](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)30010-2).

KÖPPEN, W. **Das geographische System der Klimate**. In: KÖPPEN, W.; GEIGER, R. (Eds): *Handbuch der Klimatologie*, 1936. Banda 1, Parte C, p. 1-44.

LI, C. et al. The purple acid phosphatase GmPAP21 enhances internal phosphorus utilization and possibly plays a role in symbiosis with rhizobia in soybean. **Physiologia Plantarum**, v. 159, n. 2, p. 215–227, 2017. doi: <https://doi.org/10.1111/ppl.12524>.

LI, Z. et al. Induced biotransformation of lead (II) by *Enterobacter* sp. in SO₄-PO₄-Cl solution. **Journal of Hazardous Materials**, v. 357, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.06.032>.

LIANG, X. et al. Phosphatase-mediated bioprecipitation of lead by soil fungi. **Environmental Microbiology**, v. 18. p. 219-231, 2016. doi: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13003>.

LIMA, F. et al. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 6, p. 657-661, 2011. doi: <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i4a1429>.

LU, L. et al. OsPAP10c, a novel secreted acid phosphatase in rice, plays an important role in the utilization of external organic phosphorus. **Plant Cell and Environment**, v. 39(10), p. 2247–2259, 2016. doi: <https://doi.org/10.1111/pce.12794>.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo, SP: **Editora Agronômica Ceres**, 2006.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Política Agrícola. **Soja para o Estado do Rio Grande do Sul, ano-safra 2019/2020**, Portaria nº 76, de 11 de julho de 2019.

MATTOS, J. V. **Pesquisa de opinião pública**: Efeito de bioestimulante via solo na nutrição e no rendimento de grãos de soja e trigo. Ponta Grossa, 2020. E-book. Disponível em: <https://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/3304/1/Jo%c3%a3o%20Victor%20Matos.pdf>
Acesso: 10 jan. 2023.

MEENA, V. S. et al. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: a review. **Ecological Engineering**, v. 107, p. 8-32, 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.06.058>.

MENDOZA, M. P. & VICTORIA, D. E. Ácidos Orgânicos Producidos por Rizobacterias que Solubilizan Fosfato: Uma Revisión Crítica. **Terra Latinoamericana**, v. 28, nº 1, 2010.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v.170, p.265-270, 1999. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>.

O'CALLAGHAN, M.; BALLARD, R. A. & WRIGHT, D. Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. **Soil Use and Management**, v. 38, p. 1340–1369, 2022. doi: <https://doi.org/10.1111/sum.12811>.

OLIVEIRA, C. et al. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1782-1787, 2008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.012>.

ONU, United Nations, department of economic and social affairs. **The United Nations, Population Division**, Population Estimates and Projections Section, 2022.

PAIVA, C. A. O. et al. Recomendação agronômica de cepas de *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) na cultura do milho. Embrapa Milho e Sorgo, **Circular Técnica 260**, 2020.

PANTANO, G. et al. Sustentabilidade no Uso do Fósforo: Uma Questão de Segurança Hídrica e Alimentar. **Química Nova**, v. 39, n. 6, p. 732-740, 2016. doi: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160086>.

PAREDES, M., ESPINOSA, D. Ácidos orgânicos produzidos por rizobactérias que solubilizam fosfatos: una revisión crítica. **Terra Latino-americana**, v. 28, p. 61-70, 2010.

PARK, J. H. et al. Isolation of phosphate solubilizing bacteria and their potential for lead immobilization in soil. **Journal Hazardous Materials**, v. 185, n. 2-3, p. 829-836, 2011. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.09.095>.

PATIÑO, C. **Pesquisa de opinião pública:** Solubilización de fosfatos por poblaciones bacterianas aisladas de un suelo del Valle del Cauca. Estudio de biodiversidad y eficiencia. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, 2010. E-book. Disponível em: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/7293> Acesso: 12 fev. 2023.

PATIÑO-TORRES, C. O. & SANCLEMENTE-REYES, O. E. Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. **Entramado**, v. 10, n. 2, p. 288-297, 2014.

USGS- United States Geological Survey. **Mineral Commodity Summaries**, 2019. Disponível em: https://enernews.com/media/briefs/usgs-mineral-commodity-summaries-2019_2963.pdf Acesso: 10 de fev. 2023.

PURI, A. et al. In vitro and in vivo analyses of plantgrowth-promoting potential of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. **Applied Soil Ecology**, v.149, p.1-15, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103538>.

RANA, K. L. et al. Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.113, n.8, p.1075-1107, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01429-y>.

REIS L. V. **Pesquisa de opinião pública:** Potencial do Extrator Mehlich-3 na Avaliação da Disponibilidade de Fósforo de Diferentes Solos. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2016. E-book. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/10351/3/texto%20completo.pdf> Acesso: 10 fev. 2023.

RESENDE, M. L. et al. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004. doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000400010>.

RIBEIRO, V. P. et al. Endophytic Bacillus strains enhance pearl millet growth and nutrient uptake under low-P. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 49, p. 40-46, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.06.005>.

SALVADORI, J. R. et al. **Indicações Técnicas para a Cultura da Soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina**, safras 2016/2017 e 2017/2018. Editora UPF, 2016.

SÁNCHEZ, L. D. B. et al. Efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal solubilizadoras de fosfato en Lactuca sativa cultivar White Boston. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 16, p. 122-128, 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v16n2.41077>.

SANTOS, L. F. et al. Effective microorganisms inoculant: Diversity and effect on the germination of palisade grass seeds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, e. 20180426, supl. 1, p. 1-12, 2020.

SFREDO, G. J. Empresa Brasileiro de Pesquisa Agropecuária. Soja no Brasil: Calagem, Adubação e Nutrição Mineral. **Embrapa Soja**, p. 148, 2008.

SHOLZ, R. W. et al. **Sustainable Phosphorus Management**. A Global Transdisciplinary Roadmap, e. 1, XXII, p. 299, 2014. doi: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-7250-2>.

SILVA, C. D. R. et al. Inoculação de bactérias solubilizadores de fosfato no milho: Reduzir ou não a adubação fosfatada? Insight dos primeiros estádios vegetativos. **Agri-Environmental Sciences**, v. 8, Ed. Especial, e022013, 2022. doi: <https://doi.org/10.36725/agries.v8i2.7935>.

SILVA JÚNIOR, G. S. et al. Adubação foliar com fósforo na cultura da soja, em complementação à adubação de semeadura. In: Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão. **4. Anais Pirenópolis**: UEG, 2017.

SILVA FILHO, G. N. & VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, n.2, p.311-319, 2000. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832000000200008>.

SILVA, S. R. & PIRES, J. L. F. Resposta do trigo BRS Guamirim à aplicação de Azospirillum, nitrogênio e substâncias promotoras do crescimento. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 4, p. 631-638, 2017. doi: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170073>.

SINGH, J. S.; PANDEY, V. C. & SINGH, D. P. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture**,

ecosystems & environment, v. 140, n. 3-4, p. 339-353, 2011. doi: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.01.017>.

SOUCHIE, E. L.; ABBOUD, A. C. S. & CAPRONI, A. L. Solubilizadores de fosfatos in vitro por microrganismos rizosféricos de guandu. **Bioscience Journal**, v. 23, p. 53-60, 2007.

STEEL, R. G. D; TORRIE, J. H & DICKEY, D. A. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 666p., 1997.

SYLVESTER-BRADLEY, R. et al. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 12, p. 15-22, 1982. doi: <https://doi.org/10.1590/1809-43921982121015>.

TEDESCO, M. J. et al. Análise de solo, plantas e outros materiais. **UFRGS. Boletim Técnico** 5, v. 2, 118 p., 1995.

VAN VUUREN, D. P.; BOUWMAN, A. F. & BEUSEN, A. H. W. Phosphorus demand for the 1970–2100 period: A scenario analysis of resource depletion. **Global Environmental Change**, v. 20, p. 428-439, 2010. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2010.04.004>.

VASSILEV, N. & VASSILEVA, M. Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, p. 435–440, 2003. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1318-3>.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571-586, 2003. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>.

VIVES-PERIS, V. et al. Root exudates from citrus plants subjected to abiotic stress conditions have a positive effect on rhizobacteria. **Journal of Plant Physiology**, v. 228, p. 208-217, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.06.003>.

WITHERS, P. J. A. et al. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, v. 8, n. 2537, p. 1-13, 2018. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20887-z>.

ZERPA, M. et al. Effects of *Bradyrhizobium japonicum* Inoculants on Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). Growth and Nodulation. **Annals of Biological Research**, v. 4, n. 7, p. 1993-199, 2013.

ZHANG, D. J. et al. Auxin modulates root-hair growth through its signaling pathway in citrus. **Scientia Horticulturae**, v.236, n.16, p.73-78, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.038>.

ZUFFO, A. M. et al. Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum*

brasiliense in the soybean crop. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, p. 87-93, 2015. doi:
<https://doi.org/10.19084/rca.16873>.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos experimentos realizados no campo, percebe-se que a utilização das bactérias BAC 17 e *B. subtilis/B. megaterium*, trazem diversos benefícios para a cultura da soja. Entre estes, maior número de nódulos, aumento da massa seca de raízes, maior concentração de fósforo no solo e conseqüentemente nas plantas, resultando em maior produtividade de grãos ao longo dos anos.

Estes resultados nos indicam a possibilidade da utilização de bactérias solubilizadoras de fósforo com a redução da adubação fosfatada, e conseqüentemente, reduzindo os custos de produção para a cultura da soja, mantendo ou ainda aumentando a produtividade de grãos.

O assunto de solubilizadores de fosfato na cultura da soja ainda é considerado novo. Percebe-se através destes resultados e comparando com outros autores, que há uma complexidade da interação microrganismos, solo e planta, e mais ainda, quando é relacionado a disponibilidade do fósforo com estes elementos. Desta forma, ainda se têm muitos desafios e são necessários mais estudos para esclarecer a interação entre ambos.