

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

Eduarda Spagnol Bronzatto

COMPATIBILIDADE DE MICRORGANISMOS EM CAMPO E *IN VITRO* NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E NO MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA

Santa Maria, RS

2023

Eduarda Spagnol Bronzatto

**COMPATIBILIDADE DE MICRORGANISMOS EM CAMPO E *IN VITRO* NA
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E NO MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Thomas Newton Martin

Santa Maria, RS
2023

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

Bronzatto, Eduarda Spagnol
COMPATIBILIDADE DE MICRORGANISMOS EM CAMPO E IN VITRO
NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E NO MANEJO DE DOENÇAS EM
SOJA / Eduarda Spagnol Bronzatto.- 2023.
62 p. ; 30 cm

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

1. Bioinsumos 2. Controle Biológico 3. Promoção de
crescimento de plantas I. Martin, Thomas Newton II.
Título.

sistema de geração automática de ficha catalográfica da usm. dados fornecidos pelo autor(a). sob supervisão da direção da divisão de processos técnicos da biblioteca central. bibliotecária responsável paula schoenfeldt satta ctm 10/1728.

Declaro, EDUARDA SPAGNOL BRONZATTO, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) 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.

Eduarda Spagnol Bronzatto

**COMPATIBILIDADE DE MICRORGANISMOS EM CAMPO E *IN VITRO* NA
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E NO MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Agronomia.

Aprovada em 04 de agosto de 2023

Thomas Newton Martin, Prof. Dr. (UFSM)

(Presidente/Orientador)

Glauber Monçon Fipke, Prof. Dr. (Unipampa)

Rodrigo Josemar Seminoti Jacques, Prof. Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS

2023

Aos meus pais, Juliana e Norberto, e a minha avó Lourdes. Seu amor, força e resiliência me permitiram chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Juliana e Norberto, por serem uma fonte inesgotável de amor, cuidado e carinho. E por nunca medirem esforços para que os meus sonhos fossem realizados.

Aos meus irmãos, Bruna, Gabriela e José Carlos por todo amor, carinho e suporte dedicados a mim durante todos esses anos.

À minha avó Lourdes pelo infindável incentivo aos meus estudos, bem como por todo o esforço e amor que dedicou a mim.

Ao meu namorado, João Victor, por seu meu suporte emocional e por nunca deixar faltar palavras de encorajamento durante os momentos mais difíceis. Teu amor e apoio me ajudaram a chegar mais longe.

Ao prof. Thomas Newton Martin pela orientação e incentivo durante a realização desse trabalho.

Aos colegas do Grupo Coxilha por toda ajuda, amizade e apoio durante esses dois anos.

Às colegas de mestrado Janaina de Fátima Spanevello e Eduarda Grun pela amizade, suporte emocional e auxílio durante toda a escrita deste trabalho.

À Universidade Federal de Santa Maria que me deu acesso a uma educação gratuita e de muita qualidade. Bem como a todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo incentivo financeiro para a realização dessa pesquisa.

RESUMO

COMPATIBILIDADE DE MICRORGANISMOS EM CAMPO E *IN VITRO* NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E NO MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA

AUTOR: Eduarda Spagnol Bronzatto

ORIENTADOR: Thomas Newton Martin

A utilização de microrganismos benéficos para as plantas tem se provado uma alternativa ambientalmente sustentável e economicamente rentável. Contudo, o emprego de múltiplos microrganismos em sulco de semeadura e a sua aplicação em conjunto com fungicidas em calda de pulverização no manejo de doenças são questões não completamente esclarecidas pela literatura. Dessa forma, objetivou-se com essa pesquisa avaliar a possibilidade de combinar diferentes microrganismos no sulco de semeadura da soja e misturar bactérias com fungicidas em calda para pulverização para o controle de doenças em soja. Para isto, foram realizados três experimentos. O primeiro experimento foi conduzido a campo com diferentes combinações de inoculação e coinoculação em sulco de semeadura, utilizando os seguintes microrganismos *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Trichoderma asperelloides*. O segundo experimento foi realizado em laboratório a fim de avaliar *in vitro* a sobrevivência de *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* quando expostas a diferentes fungicidas, simulando uma calda de pulverização, através da mistura de uma bactéria e um produto formulado. O terceiro experimento também foi realizado à campo, testando diferentes manejos foliares no controle de antracnose (*Colletotrichum truncatum*) envolvendo aplicações de produtos químicos e das bactérias *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*, e mistura de ambos em calda de pulverização. No primeiro experimento as variáveis avaliadas foram: número de nódulos, massa seca dos nódulos, área superficial das raízes, volume e comprimento das raízes, produtividade de grãos, massa de mil grãos e percentual de cobertura do solo. No segundo experimento avaliou-se a sobrevivência das bactérias através da contagem de unidades formadoras de colônia. No terceiro experimento foram avaliados: percentual de incidência de antracnose nos pecíolos, percentual de desfolha, produtividade de grãos e massa de mil grãos. Nas condições testadas, em que houve restrição hídrica, a utilização de microrganismos em sulco de semeadura não gerou ganhos de produtividade em relação a testemunha não inoculada. Foram encontradas diferentes respostas na sobrevivência de *B. subtilis* e *P. fluorescens* de acordo com o princípio ativo utilizado, sendo que para *B. subtilis* houve redução na sobrevivência para os princípios ativos mancozebe, difenoconazol, picoxistrobina + benzovindiflupir e impirfluxam + tebuconazol, enquanto que para *P. fluorescens* houve redução na sobrevivência para todos os fungicidas testados. Contudo, o manejo biológico envolvendo ambas as bactérias apresentaram efeito estatisticamente igual ao manejo químico no controle de antracnose e na produtividade da cultura da soja, sendo o manejo biológico com ambas uma opção no controle de doenças.

PALAVRAS-CHAVE: Biocontrole. Compatibilidade. Promoção do crescimento.

ABSTRACT

COMPATIBILITY OF MICRO-ORGANISMS IN THE FIELD AND IN VITRO IN GROWTH PROMOTION AND MANAGEMENT OF DISEASES IN SOYBEANS

AUTHOR: Eduarda Spagnol Bronzatto

ADVISOR: Thomas Newton Martin

The use of beneficial microorganisms for plants has proven to be an environmentally sustainable and economically profitable alternative. However, the use of multiple microorganisms in sowing furrows and their application together with fungicides in spray mixtures in disease management are issues that have not been completely clarified in the literature. The objective of this research was to evaluate the possibility of combining different microorganisms in the soybean sowing furrow and mixing bacteria with fungicides in spray mixture to control diseases in soybeans. For this, three experiments were carried out. The first experiment was carried out in the field with different combinations of inoculation and coinoculation in a sowing furrow, using the following microorganisms *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma asperelloides*. The second experiment was carried out in the laboratory in order to evaluate in vitro survival of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* when exposed to different fungicides, simulating a spray solution, through the mixture of a bacteria and a formulated product. The third experiment was also conducted in the field, testing different foliar treatments to control anthracnose (*Colletotrichum truncatum*) involving applications of chemical products and the bacteria *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*, and a mixture of both in spray mixture. In the first experiment, the variables evaluated were: number of nodules, dry mass of nodules, surface area of roots, volume and length of roots, grain productivity, mass of one thousand grains and percentage of soil cover. In the second experiment, the survival of bacteria was evaluated by counting colony-forming units. In the third experiment, the following were evaluated: percentage incidence of anthracnose on petioles, percentage of defoliation, grain productivity and mass of one thousand grains. Under the conditions tested, in which there was water restriction, the use of microorganisms in the sowing furrow did not generate productivity gains in relation to the uninoculated control. Different responses were found in the survival of *B. subtilis* and *P. fluorescens* according to the active ingredient used, and for *B. subtilis* there was a reduction in survival for the active ingredients mancozeb, difenoconazole, picoxystrobin + benzovindiflupyr and impirfluxam + tebuconazole, while for *P. fluorescens* there was a reduction in survival for all fungicides tested. However, biological management involving both bacteria had a statistically equal effect to chemical management in controlling anthracnose and in soybean crop productivity, with biological management with both being an option in disease control..

Keywords: Biocontrol. Compatibility. Promoting growth.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - GRÁFIO DO BALANÇO HÍDRICO E DAS TEMPERATURAS MÉDIAS DURANTE A SAFRA 2021/22. AS SETAS INDICAM RESPECTIVAMENTE SEMEADURA, FLORESCIMENTO (R1) E COLHEITA.....27
- FIGURA 2 - GRÁFIO DO BALANÇO HÍDRICO E DAS TEMPERATURAS MÉDIAS DURANTE A SAFRA 2022/23. AS SETAS INDICAM RESPECTIVAMENTE SEMEADURA, FLORESCIMENTO (R1) E COLHEITA.....27
- FIGURA 3 - MÉDIAS PARA A VARIÁVEL SOBREVIVÊNCIA DAS BACTÉRIAS QUANDO EM MISTURA COM FUNGICIDAS (UFC/mL⁻¹)40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICAS DO SOLO DA ÁREA EXPERIMENTAL. SANTA MARIA, RS, 2021 E 2022.....	26
TABELA 2 - TRATAMENTOS APLICADOS EM SULCO DE SEMEADURA. UFSM, SANTA MARIA (RS), 2021/2022 E 2022/2023.....	26
TABELA 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS TRATAMENTOS DO SEGUNDO EXPERIMENTO- COMPATIBILIDADE ENTRE BACTÉRIAS E FUNGICIDAS IN VITRO.	30
TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS TRATAMENTOS DO TERCEIRO EXPERIMENTO - MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA UTILIZANDO CONTROLE QUÍMICO E BIOLÓGICO.....	31
TABELA 5 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA COM OS QUADRADOS MÉDIOS PARA AS VARIÁVEIS: NÚMERO DE NÓDULOS (NN), MASSA DE NÓDULOS (MN, G), ÁREA SUPERFICIAL DAS RAÍZES (ASR, CM ²), VOLUME DAS RAÍZES (VR, CM ³), COMPRIMENTO DAS RAÍZES (CR, CM), PERCENTUAL DE COBERTURA DO SOLO NO ESTÁGIO V4 (PCV ₄ , %) E NO ESTÁGIO V8 (PCV ₈ , %), PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (PG, KG HA ⁻¹) E MASSA DE MIL GRÃOS (MMG, G).....	33
TABELA 6 - NÚMERO DE NÓDULOS (NN), MASSA DE NÓDULOS (MN, G), ÁREA SUPERFICIAL DAS RAÍZES (ASR, CM ²), VOLUME DAS RAÍZES (VR, CM ³), COMPRIMENTO DAS RAÍZES (CR, CM), PERCENTUAL DE COBERTURA DO SOLO V ₄ (PCV ₄ , %) E EM V ₈ (PCV ₈ , %), PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (PG, KG HA ⁻¹) E MASSA DE MIL GRÃOS (MMG, G).....	34
TABELA 7 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A TAXA DE SOBREVIVÊNCIA DE BACTÉRIAS QUANDO MISTURADAS A FUNGICIDAS (UFC/ML ⁻¹).....	39
TABELA 8- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS SEGUINTE VARIÁVEIS: PERCENTUAL DE INCIDÊNCIA DE ANTRACNOSE NOS PECÍOLOS (PD/PT, %), PERCENTUAL DE DESFOLHA (NF/NTN), PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (PG, KG HA ⁻¹) E MASSA DE MIL GRÃOS (MMG, G).....	43
TABELA 9- PERCENTUAL DE INCIDÊNCIA DE ANTRACNOSE NOS PECÍOLOS (PD/PT, %),	

PERCENTUAL DE DESFOLHA (NF/NTN), PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (PG, KG HA-1) E MASSA DE MIL GRÃOS (MMG, G).....44

TABELA 10- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS SEGUINTE VARIÁVEIS: PERCENTUAL DE INCIDÊNCIA DE ANTRACNOSE NOS PECÍOLOS (PD/PT, %), PERCENTUAL DE DESFOLHA (NF/NTN), PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (PG, KG HA-1) E MASSA DE MIL GRÃOS (MMG, G).....46

TABELA 11- PERCENTUAL DE INCIDÊNCIA DE ANTRACNOSE NOS PECÍOLOS (PD/PT, %), PERCENTUAL DE DESFOLHA (NF/NTN), PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (PG, KG HA-1) E MASSA DE MIL GRÃOS (MMG, G).....47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 A SUSTENTABILIDADE NA CULTURA DA SOJA.....	12
2.2. POTENCIAIS USOS DOS MICRORGANISMOS.....	14
2.3 SOBREVIVÊNCIA DOS MICRORGANISMOS NO SOLO.....	17
2.4 UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS NO CONTROLE DE DOENÇAS.....	19
3 OPÇÕES DE USO DE MICRORGANISMOS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO E NO MANEJO DE DOENÇAS DE SOJA.....	21
4 INTRODUÇÃO.....	23
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
5.1 PRIMEIRO EXPERIMENTO: MICRORGANISMOS EM SULCO DE SEMEADURA.....	25
5.2 SEGUNDO EXPERIMENTO: COMPATIBILIDADE ENTRE BACTÉRIAS E FUNGICIDAS <i>IN VITRO</i>	28
5.3 TERCEIRO EXPERIMENTO: MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA UTILIZANDO CONTROLE QUÍMICO E BIOLÓGICO.....	30
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
6.1 PRIMEIRO EXPERIMENTO: MICRORGANISMOS EM SULCO DE SEMEADURA. SAFRAS 2021/22 E 2022/23.....	33
6.2 SEGUNDO EXPERIMENTO: COMPATIBILIDADE ENTRE BACTÉRIAS E FUNGICIDAS <i>IN VITRO</i>	39
6.3 TERCEIRO EXPERIMENTO: OPÇÕES DE MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA UTILIZANDO CONTROLE QUÍMICO E BIOLÓGICO.....	43
7 CONCLUSÕES.....	48
REFERENCIAS:.....	49

1 INTRODUÇÃO

A soja é uma das culturas de maior importância econômica no mundo e é considerada uma das principais *commodities* brasileiras. A grande relevância dessa cultura se dá pela utilização dos seus grãos como fonte de óleo e proteína, utilizados para a alimentação humana e animal. No Brasil, a produção de soja na safra 2022/2023 foi de 155.736,5 mil toneladas (CONAB, 2023). Sendo imprescindível para alimentar uma população que vem crescendo em taxas expressivas. Contudo, além de incrementos na quantidade de grãos colhidos, também há uma preocupação social, com a realização de uma agricultura sustentável com menores impactos ambientais.

O uso de bioinsumos é uma ferramenta que permite ganhos em produtividade, sem causar danos ao ambiente, além de ser uma tecnologia de baixo custo. A utilização de microrganismos associados a plantas visa atuar na promoção do crescimento vegetal, mitigando os efeitos de estresses bióticos e abióticos e também na auxiliar a planta na defesa contra o ataque de pragas e doenças. Dentre os microrganismos recomendados para a cultura da soja tem-se a bactéria simbiote *Bradyrhizobium* spp., que quando associada a leguminosas realiza a fixação biológica do nitrogênio (FBN), o que viabiliza altas produtividades sem a necessidade de aplicação de nitrogênio mineral. Outros microrganismos também são utilizados em associação ao *Bradyrhizobium* spp., processo este conhecido por coinoculação ou inoculação mista. Entre eles, citam-se as bactérias *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e o fungo *Trichoderma asperelloides*. Estes podem atuar de forma direta, estimulando o crescimento e/ou indireta através do controle biológico de doenças de plantas.

Porém, nem sempre a utilização simultânea de vários microrganismos em sulco de semeadura vai resultar em múltiplos benefícios para a planta. Pesquisas apontam que os microrganismos possuem relações ecológicas de velocidade de crescimento e ocupação da rizosfera distintos. Dessa forma, podem ser competidores entre si, não causando o efeito sinérgico esperado. Além disso, apesar da utilização de microrganismos no controle de doenças ser uma alternativa viável e comprovada pela literatura, surgem incertezas a respeito da utilização de bactérias simultaneamente a agrotóxicos, realizando a mistura de ambos em caldas de pulverização. Nas propriedades rurais, a prática da mistura de tanque é recorrente, devido a sua praticidade e maior eficiência no controle de pragas e doenças, além de que possibilita uma redução de custos de aplicação.

Dessa forma, as interações de microrganismos entre si e a sua mistura com agrotóxicos

devem ser melhor compreendidas. Afim de que se possa explorar ao máximo os benefícios advindos dos microrganismos, evitando que essas ferramentas sejam utilizadas de forma equivocada, acarretando em limitações na sua eficiência.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A SUSTENTABILIDADE NA CULTURA DA SOJA

Desde meados da década de 60 quando foram introduzidas novas variedades adaptadas ao cenário brasileiro, a cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.) apresentou uma difusão gradual e consistente no território nacional. Nos últimos 20 anos o crescimento anual entre as safras agrícolas foi de 6,2%, triplicando o volume de grãos colhidos (SEIXAS et al., 2020). A ampla expansão inicial dessa *commodity* no Brasil se deu em decorrência da extensa oferta de terras aráveis, tecnificação e mecanização das áreas e por conseguinte elevada eficiência operacional, bem como baixos custos de produção por hectare (GOLDSMITH, 2008). Atualmente a soja brasileira ocupa uma área de mais de 44 milhões de hectares com uma produção na safra 2022/23 de 155.736,5 milhões de toneladas, representando um aumento de 24% em relação à safra anterior (CONAB, 2023). Este fato se deve não somente ao melhoramento genético de plantas, mas também a evolução nas práticas de manejo, sendo que a produtividade média da soja brasileira nos últimos 50 anos passou de 1748 para 3359 kg ha⁻¹.

A soja é caracterizada por conter proteína de elevado valor biológico, além de possuir altos teores de ferro, cálcio, zinco, potássio e vitamina E. O óleo extraído dos grãos é usado na indústria como matéria prima na produção de biocombustíveis, lubrificantes e plásticos (GÜZELER; YILDIRIM ÖZBEK, 2016). A composição nutricional da soja aliada à sua viabilidade de produção em diferentes áreas, faz com que essa oleaginosa seja a principal proteína de origem vegetal consumida por seres humanos e animais (PEIRETTI et al., 2019), tornando-se essencial para alimentar uma população de mais de 8 bilhões de pessoas. Estima-se que a necessidade por alimentos deve ter um crescimento de 35 a 56% entre os anos de 2010 a 2050 (VAN DIJK et al., 2021). A produção global de soja duplicou nas últimas duas décadas, sendo que essa expansão se deu em 70% devido a adoção de novas terras agricultáveis e 30% em relação a incrementos de produtividade (CASSMAN; GRASSINI, 2020).

Contudo, o grande desafio da agricultura moderna é não somente aumentar a produtividade das áreas, a fim de garantir alimento para uma população crescente, mas fazer isso de modo que cause o menor impacto ambiental possível (VIEIRA et al., 2010). Visando

alcançar esse objetivo, uma dessas ferramentas de manejo sustentável são os bioinsumos, que são produtos formulados a base de organismos vivos usados na produção agrícola para promover o desenvolvimento de plantas e também aumentar a fertilidade do solo (IANNETTA et al., 2016). No Brasil, a utilização de bioinsumos vem se consolidando nos últimos anos, segundo dados da Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII, 2017) o Brasil é líder mundial na utilização de inoculantes, consumindo no ano de 2017 mais de 50 milhões de doses.

A utilização de bactérias e fungos na agricultura visa atender a diversas demandas, uma vez que esses microrganismos quando em contato com as plantas desempenham diferentes funções, sendo capazes de gerar benefícios diretos e indiretos na melhoria do desenvolvimento vegetal. Cumprindo um papel importante na regulação da ciclagem dos nutrientes, nos processos biológicos e também na disponibilidade de nutrientes para as plantas (RAMESH et al., 2014), já que estimulam a produção de substâncias promotoras do crescimento, auxiliando na nutrição das plantas (GAGNÉ-BOURQUE et al., 2015). Além disso, também agem como biofungicidas, atuando no controle de doenças e na indução de resistência sistêmica da planta (CASTALDI et al., 2021). Aumentando a tolerância vegetal a estresses bióticos e abióticos através de mecanismos como a síntese do ácido 1-amino-ciclopropano-1-carboxílico (ACC) (SPOLAOR et al., 2016). Os incrementos referentes a nutrição de plantas e crescimento vegetal mediados por bactérias podem ser atribuídos principalmente aos seguintes processos: solubilização de fosfatos inorgânicos insolúveis, absorção de potássio, produção de sideróforos, a síntese de fitormônios, principalmente o ácido-3-indol acético (AIA) e também a FBN, no caso das bactérias diazotróficas (ALORI; GLICK; BABALOLA, 2017; BAKHSHANDEH et al., 2020; OLANREWAJU; GLICK; BABALOLA, 2017).

Um dos maiores exemplos de sucesso da utilização de bioinsumos na sojicultura brasileira diz respeito a associação com *Bradyrhizobium* spp. Uma vez que quando associadas simbioticamente às plantas de soja, essas bactérias realizam um processo denominado de fixação biológica de nitrogênio (FBN). Esses microrganismos possuem uma enzima específica, denominada nitrogenase, que é capaz de quebrar a tripla ligação do nitrogênio atmosférico, transformando-o em amônia (NH_3), forma que é absorvível pela planta. Desse modo há todo o suprimento de N requerido pela cultura, inclusive para cultivares mais produtivas (SCHWEMBER et al., 2019), acarretando em aumento da produtividade a um baixo custo (LEGGETT et al., 2017). Segundo Ciampitti & Salvagiotti (2018) o aporte de nitrogênio proveniente da FBN na soja pode chegar a 372 kg ha^{-1} , o que propicia anualmente uma economia em fertilizantes nitrogenados de cerca de US\$ 21 bilhões para os produtores

brasileiros.

Dessa forma, os benefícios da adição de microrganismos no sistema produtivo, não passam somente pelo escopo econômico, mas também pelo ambiental, sendo uma alternativa econômica e ambientalmente interessante (ZEFFA et al., 2020). A aplicação de microrganismos na agricultura tem potencial de reduzir a necessidade de aplicações de fertilizantes nitrogenados e agrotóxicos, fazendo com que haja aumento de produtividades, redução de custos de produção e conservação dos recursos ambientais (SOUZA; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2015), o que evita o esgotamento de recursos finitos e também a contaminação de solo e água. Além disso, o controle biológico de pragas e doenças constitui uma alternativa para atender a procura cada vez mais intensa de produtos e alimentos livres de resíduos deixados pelas aplicações de agrotóxicos (MACHADO et al., 2012). Desse modo, o uso de biofertilizantes e biopesticidas representam uma opção para quem deseja obter uma elevada produção com um menor impacto ecológico (HERMOSA et al., 2012).

2.2. POTENCIAIS USOS DOS MICRORGANISMOS

Além de *Bradyrhizibium* spp., outros microrganismos também podem atuar de forma benéfica quando associados a plantas de soja. Um exemplo disso são as bactérias que colonizam as raízes e tem ação positiva no estímulo ao crescimento de plantas. Estas são conhecidas como bactéria promotoras do crescimento de plantas (BPCP). Dentre os gêneros de BPCP de maior interesse agrícola pode-se destacar *Azospirillum* spp., *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp., e o fungo *Trichoderma* spp. A adição desses microrganismos no sistema produtivo pode ocorrer via solo, através da inoculação de sementes ou no sulco de semeadura. Ou ainda podem se dar através de aplicações foliares. Cada uma dessas formas de utilização apresenta vantagens e desvantagens e deve ser realizada de acordo com uma série de fatores, tanto técnicos quanto ambientais. O acréscimo de microrganismos no sistema, é uma ferramenta biotecnológica que visa melhorar a produtividade da soja, contribuindo para as práticas atuais de sustentabilidade na agricultura (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2015). Isto porquê são uma alternativa ao uso de insumos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos, promovendo uma maior independência dos produtores em relação a importação desses produtos (CANFORA et al., 2021).

O gênero *Azospirillum* ganhou relevância mundial a partir das descobertas da Dra. Johanna Döbereiner, pesquisadora da Embrapa que comprovou o potencial dessas bactérias em realizar a fixação biológica de nitrogênio quando associado a gramíneas (DOBEREINER;

MARRIEL; NERY, 1976). Essa bactéria se caracteriza por ser gram-negativa, microaerofílica, não fermentativa e diazotrófica. De forma geral, os benefícios atribuídos a esse gênero envolvem a promoção do crescimento de plantas, a indução da tolerância de estresses biotóxicos e abióticos e também a melhoria da nutrição mineral das plantas. Estes estão correlacionados com a sua habilidade de realizar a fixação biológica do nitrogênio (FBN) e de sintetizar fitormônios bacterianos, especialmente o ácido indol-3-acético (IAA) (CASSÁN; VANDERLEYDEN; SPAEPEN, 2014; SCUDELETTI et al., 2023). Contudo, apesar de possuir o mesmo complexo nitrogenase presente nas bactérias simbióticas, o que permite a conversão do N atmosférico em amônia, essa bactéria endofítica disponibiliza apenas uma parte do N fixado, não sendo suficiente para suprir toda a necessidade da soja por esse mineral (HUNGRIA, 2011). Dessa forma, se prioriza o uso de *Azospirillum* spp. em coinoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* spp. A utilização conjunta desses dois gêneros bacterianos possibilita maior ocorrência de nódulos na raiz principal e na secundária, além de promover uma melhor arquitetura radicular, aumento do volume e comprimento de raiz. Isso faz com que haja maior volume de solo explorado e, conseqüentemente melhor eficiência na absorção de nutrientes (CASSÁN et al., 2020; MAURICIO; SILVA; SOUZA, 2018). Estudos de Hungria et al. (2013) apontam que pode haver um aumento médio de cerca 16,1% na produtividade de soja em relação à testemunha, quanto esta recebe a coinoculação de *Bradyrhizobium* spp. e *A. brasilense*. Enquanto que na inoculação isolada *Bradyrhizobium* spp. o incremento de produtividade pode chegar a 8,4%. No Brasil, o primeiro inoculante a base de *Azospirillum* spp. foi registrado no ano de 2010 pela empresa Stoller do Brasil SA (Campinas, São Paulo), e continha *A. brasilense*, com as cepas Abv5 e Abv6. Essas cepas ainda correspondem a 100% dos inoculantes a base de *Azospirillum brasilense* comercializados no Brasil.

Outro gênero bacteriano de interesse agrônômico é o *Bacillus*, que são bactérias gram-positivas e apresentam vasta distribuição no ambiente. A formulação de inoculantes com cepas de *Bacillus* spp. apresenta uma vantagem em relação aos demais microrganismos, uma vez que essas bactérias possuem a capacidade de formar estruturas de resistência, conhecidas como endósporos. O que promove maior tolerância a condições estressantes do meio, tais como variações de temperatura, pH e até mesmo contato com agrotóxicos (BAHADIR; LIAQAT; ELTEM, 2018). A utilização de *Bacillus* spp. na promoção do crescimento de plantas ocorre através de uma série de mecanismos desencadeados por essas bactérias quando em contato com a planta. Dentre eles, a capacidade de sintetizar hormônios que induzem o crescimento vegetal (HASSAN, 2017), a secreção da enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase, que acarreta na inibição da síntese de etileno (YAISH; ANTONY; GLICK, 2015),

a solubilização de minerais, como o fósforo, permitindo uma maior aquisição de nutrientes para as plantas (BAHADIR; LIAQAT; ELTEM, 2018; ZHAO et al., 2011) e também a produção de compostos orgânicos voláteis como acetoína, 2,3-butanodiol, albuterol e 1,3-propanodiol, que atuam na regulação do metabolismo dos fitormônios, tais como giberelina, citocininas, ácido abscísico (ABA) e ácido indol-3-acético (IAA) (KANG et al., 2019; RATH; MITCHELL; GOLD, 2018). A produção de fitormônios pela planta auxilia na mitigação dos estresses enfrentados, sendo que as giberelinas, auxinas e citocininas atuam na promoção do crescimento vegetal, enquanto que o ácido abscísico age de forma a reduzir o impacto de estresses abióticos (KOSOVÁ et al., 2012). Dessa forma, indução da produção de diferentes fitormônios pode auxiliar na melhora da fisiologia da planta, bem como propiciar aumento da sua biomassa e, por conseguinte, elevar o rendimento da cultura.

Já as bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* são microrganismos gram-negativos, aeróbicos, que apresentam formato de bastonete e possuem flagelos polares que garantem a sua motilidade. Essas bactérias possuem ampla distribuição nos solos da rizosfera sendo capazes de sobreviver em diferentes ambientes (KUMAR et al., 2016). Além disso, possuem rápido crescimento, uma vez que utilizam diferentes substratos orgânicos para fomentar seu desenvolvimento. Isso resulta em maior facilidade na formulação dessa bactéria como bioinsumo, pois suporta melhor as diferentes condições de meio, contribuindo para a sua comercialização (DORJEY; DOLKAR; SHARMA, 2017). A utilização de *Pseudomonas* spp. em lavouras de soja diz respeito ao seu potencial como solubilizador de fosfato (YADAV; YADAV; VASHISTHA, 2016), na sua atuação como promotor de crescimento de plantas (DAVID; CHANDRASEHAR; SELVAM, 2018) e também na sua ação antifúngica (TIAN et al., 2017). Uma vez que atuam induzindo resistência sistêmica nas plantas e também na produção de compostos antibióticos e sideróforos quelantes de ferro. Estudos *in vitro* de Castaldi et al. (2021) apontaram que cepas de *Pseudomonas fluorescens* foram capazes de inibir até 75% do crescimento de *Macrophomina phaseolina*, um importante patógeno de solo que ataca a cultura da soja.

Os fungos também podem gerar ganhos quando presentes na biota do solo. Um importante exemplo disso é o gênero *Trichoderma*, que quando presente na rizosfera pode auxiliar na promoção do crescimento de plantas e na defesa do sistema radicular contra o ataque de patógenos (MARTÍNEZ; INFANTE; REYES, 2013). *Trichoderma* spp. também realiza a síntese de fitormônios como etileno e auxina que tem ação indireta no crescimento e defesa do vegetal (HERMOSA et al., 2012). Além disso, algumas cepas possibilitam um maior crescimento do sistema radicular, fazendo com que as raízes tenham acesso um maior volume

de solo, e conseqüentemente a mais nutrientes e água (CHAGAS et al., 2017). Esses microrganismos podem ainda promover a solubilização de fosfato (BORGES CHAGAS et al., 2015), deixando-o disponível para ser absorvido pela planta. Contudo, a principal aplicação de *Trichoderma* spp. diz respeito a sua capacidade de parasitar uma grande variedade de fungos patogênicos, sendo um eficaz biofungicida (ABBEY et al., 2019). Dentre os mecanismos utilizados por *Trichoderma* spp que podem ser usados para controlar fitopatógenos, tem-se a antibiose, microparasitismo, competição e indução de resistência de plantas (CONSOLO et al., 2012).

2.3 SOBREVIVÊNCIA DOS MICRORGANISMOS NO SOLO

A utilização de microrganismos nos agroecossistemas apresenta uma série de benefícios para as plantas, que se dão através do estabelecimento de relações mutualistas. Os microrganismos agem mitigando estresses abióticos e bióticos, atuando como biofertilizantes e bioestimulantes (POVEDA; EUGUI, 2022). Contudo, apesar dos inúmeros benefícios que cada microrganismo apresenta, nem sempre seu uso associado acarreta em uma melhora nos resultados. Isto porque eles se encontram em contínua interação, apresentando relações de simbiose, antagonismo, mutualismo e parasitismo entre as diferentes espécies (GOUDA et al., 2018). Além disso, ao serem introduzidas no solo, esses microrganismos precisam ainda encontrar espaço dentro da vasta heterogeneidade da rizosfera, competindo com a microbiota nativa a fim de se estabelecer neste nicho. Dessa forma, a eficácia desse processo também depende das características do inoculante e da sua interação com o solo e com a planta (CARDOZO et al., 2022). Uma vez que introdução de inoculantes nesse sistema pode acarretar em competição com a biota já existente, não ocorrendo os efeitos sinérgicos esperados (TRABELSI; MHAMDI, 2013). Desse modo, a utilização de inoculantes com elevado número de bactérias fisiologicamente ativas é primordial, a fim de que esses microrganismos introduzidos possam se estabelecer neste novo espaço de forma satisfatória.

A sobrevivência e a manutenção das propriedades microbianas são imprescindíveis, pois é somente desse modo que a bactéria vai conseguir infectar a planta e cumprir com o seu objetivo. A qualidade de um inoculante diz respeito ao número de células viáveis e com atividade microbiológica capazes de realizar a função pretendida pela cepa no momento em que vão para a prateleira (BASHAN et al., 2014). No Brasil, segundo a Instrução Normativa SDA Nº 13, de 24 de março de 2011, a concentração mínima para um produto a base de bactérias fixadoras de nitrogênio para simbiose com leguminosas deve ser de $1,0 \times 10^9$ unidades

formadoras de colônias (UFC) por grama ou mililitro de produto. Sendo que essa concentração deve ser mantida até a data do vencimento. Hungria et al. (2017) recomenda que se forneça a quantidade mínima de $1,2 \times 10^6$ de células por semente de soja para *Bradyrhizobium* spp. para que a planta consiga obter os benefícios da fixação biológica do nitrogênio.

Outro fator importante para que o processo da infecção da bactéria na planta seja bem-sucedido é a presença de água no sistema. A umidade do solo é um dos fatores de maior relevância para as interações biogeoquímicas intermediadas pelos microrganismos na rizosfera. Sendo vital para o estabelecimento da nodulação e também para a exportação do nitrogênio convertido pelos microrganismos diazotróficos para o resto da planta (KASPER et al., 2019). A sobrevivência das bactérias inoculadas nas sementes de soja depende de uma série de fatores, sendo que a restrição hídrica e temperaturas elevadas se mostraram as mais danosas (CEREZINI et al., 2016). Estudos de Pinto et al. (2023) mostraram que a exposição de sementes de soja inoculadas com cepas de *Bradyrhizobium* spp. na concentração 5×10^9 UFC mL⁻¹ tiveram uma redução de pelo menos 50% na viabilidade das células bacterianas quando estas foram expostas a um solo seco e temperaturas acima de 32 °C, por um período de 2h, sendo que após 12 dias, somente sobreviveram cerca de $1,5 \times 10^3$ células viáveis por semente.

Diversos estudos já foram conduzidos a fim de melhorar o entendimento a respeito das interações entre microrganismos, pois essas interrelações determinam a eficiência do processo de coinoculação. A associação entre *Trichoderma* spp, e *Bradyrhizobium japonicum* via semente é um exemplo de combinação sinérgica, uma vez que resultou em um maior controle do patógeno *Phytophthora sojae* e também promoveu o crescimento de plântulas (AYOUBI; ZAFARI; MIRABOLFATHY, 2012). Além disso, a utilização de *B. japonicum* e *A. brasilense* via sulco de semeadura, propiciou aumento nas variáveis número e massa de nódulos e também na produtividade da soja (BRACCINI et al., 2016). Sordi et al. (2017) ainda constataram que a coinoculação com essas duas bactérias via semente resultou em aumento de cerca de 13% no rendimento da cultura em relação a testemunha não-inoculada. A interação entre isolados de *Trichoderma* spp. e *B. subtilis* também resultou em ganhos nas variáveis altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar e massa seca de raiz da soja aos 35 dias após a semeadura. Ademais, a associação desses dois microrganismos fizeram com que houvesse um aumento na população de *B. subtilis* na rizosfera, passando de 1×10^{10} UFC g⁻¹ para $4,05 \times 10^{11}$ UFC g⁻¹ (MIFTAKHURROHMAT; SUTARMAN, 2021).

Contudo, algumas combinações entre microrganismos podem gerar efeitos antagonistas. Como é o caso da interação entre a bactéria *Pseudomonas* spp. e o fungo *Trichoderma* spp. *in vitro* (BIN; KNUDSEN; ESCHEN, 1991), sendo que neste estudo a primeira levou a uma

inibição da esporulação e no crescimento micelar do fungo. Além disso, a combinação entre esses dois microrganismos pode afetar a sua ação como agentes de controle biológico uma vez que alteram os níveis de expressão de algumas quitinases (SHIRZAD et al., 2012). Assim, se faz necessário que se tenha uma compreensão mais clara a respeito das interações entre os diferentes microrganismos, a fim de que se possa determinar quais são as interações mais benéficas a serem utilizadas a campo.

2.4 UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS NO CONTROLE DE DOENÇAS

A necessidade de garantir a segurança alimentar de uma população de mais de oito bilhões de pessoas fez com que, por muitos anos, o uso de produtos sintéticos como fertilizantes e defensivos químicos fosse imprescindível. Dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020) apontam que no ano de 2020 o Brasil utilizou 377.176 toneladas de agrotóxicos, sendo que em conjunto com China e Estados Unidos, são os maiores consumidores desses produtos no mundo. Apesar dos inúmeros benefícios advindos do uso de químicos na agricultura, tem-se buscado a utilização de opções mais ecológicas para o controle de doenças e pragas, visando reduzir parcial ou totalmente o uso de agrotóxicos. Uma vez que estes podem causar danos ao ambiente, tais como a degradação da saúde humana, animal, do solo, do ar e da água (SHARMA; SINGHVI, 2017). Uma dessas soluções verdes é a utilização de microrganismos com a finalidade de proteger a planta de forma direta ou indireta, sendo estes agentes de controle denominados de biopesticidas (POVEDA; EUGUI, 2022). O mercado de biopesticidas vem mostrando um crescimento gradual, sendo que nos últimos anos apresentou incremento de cerca de 10% ao ano (KUMAR; SINGH, 2015).

Dentre as diferentes categorias de biopesticidas, estão aqueles que se originam a partir de bactérias, fungos ou vírus. A aceitação da utilização desses compostos se dá pela eficácia no controle e também por apresentarem alta especificidade, tornando-se uma alternativa de baixo impacto ambiental. Já que por possuírem ação multissítio reduzem o aparecimento de pragas resistentes, além de não deixarem resíduos tóxicos nas lavoura (KUMAR et al., 2021; MISHRA; DUTTA; ARORA, 2020). Alguns dos principais gêneros de bactérias utilizadas como biopesticidas são *Bacillus* spp. (SAGAR et al., 2022) e *Pseudomonas* spp. (WELLER, 2007). A ação antimicrobiana de bactérias do gênero *Bacillus* envolve diversos mecanismos de ação, tais como a formação de biofilme que protege a planta contra estresses ambientais, oxidação e toxinas (DINH et al., 2019). Também agem competindo por nutrientes e espaço com outros microrganismos fitopatogênicos, além de produzirem metabólitos secundários com ação

antibiótica e antifúngica, tais como surfactina, iturina e fengicina (MNIF; GHRIBI, 2015). Acredita-se que cerca de 5% do genoma de cepas de *B. subtilis* sejam específicas para a codificação de moléculas com ação antimicrobiana (MEDEOT et al., 2020). Essas bactérias são caracterizadas pela formação de estruturas de proteção, os endósporos. O que permite uma maior sobrevivência no meio, facilitando a sua comercialização. O gênero *Pseudomonas* também age no controle de doenças através da antibiose, da secreção de metabólitos secundários, além de competição por alimento e espaço (RAHMAN; BORAH; BORA, 2020). Ademais, essas bactérias também produzem sideróforos quelantes de ferro, como pioverdina e pseudobactina, que capturam o ferro disponível impedindo que este seja aproveitado por outros microrganismos (WELLER, 2007). Bactérias gram-negativas, como é o caso das bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, possuem o sistema de secreção T6SS que permite a injeção de proteínas tóxicas diretamente em células procarióticas ou eucarióticas adjacentes, causando inibição do crescimento e até a morte celular destas (BORRERO DE ACUÑA; BERNAL, 2021; MONJARÁS FERIA; VALVANO, 2020).

Devido ao potencial uso de bactérias no controle de doenças, tem-se discutido a possibilidade de realizar a aplicação destas em conjunto com agrotóxicos em calda de pulverização, para que se possa obter uma otimização de tempo e dos equipamentos disponíveis nas propriedades. Ao realizar a aplicação conjunta de produtos, além da economia em mão de obra e combustível, também é possível realizar um maior controle de pragas e doenças, mesclando diferentes modos de ação. Entretanto, ainda não se tem certeza se essas duas ferramentas podem ser utilizadas de forma simultânea. Os microrganismos quando submetidos a ação de agrotóxicos, podem apresentar mudanças no seu metabolismo, como a redução do tamanho das colônias formadas e da atividade da enzima nitrogenase (RODRIGUES et al., 2020). Em condições de campo se tem ainda menos respostas para este questionamento, mas sabe-se que o grau de compatibilidade com os agrotóxicos depende do princípio ativo, formulação, doses, tempo de contato com as células e pode variar com a espécie ou cepa bacteriana (SANTOS et al., 2021). O entendimento entre as interações entre os microrganismos e o grau de compatibilidade com os agrotóxicos ainda é pouco conhecido. Dessa forma, se fazem necessários mais estudos que visem atender a esta demanda.

3. OPÇÕES DE USO DE MICRORGANISMOS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO E NO MANEJO DE DOENÇAS DE SOJA

AUTOR: Eduarda Spagnol Bronzatto
ORIENTADOR: Thomas Newton Martin

RESUMO

A utilização de microrganismos na cultura da soja é uma opção para a realização de uma agricultura mais sustentável, uma vez que estes podem atuar na promoção do crescimento das plantas e também no controle de doenças causando um baixo impacto ambiental. Dessa forma, objetivou-se com essa pesquisa estudar a possibilidade de coinoculação de microrganismos em sulco de semeadura da soja e também diferentes opções de manejo no controle de doenças utilizando produtos químicos e biológicos e mistura de ambos. Foram realizados três experimentos, o primeiro e o terceiro experimento seguiram o delineamento de blocos ao acaso e foram realizados a campo, enquanto que o segundo experimento foi realizado em laboratório seguindo o delineamento inteiramente casualizado. No primeiro experimento avaliou-se parâmetros agronômicos da cultura da soja com a aplicação de microrganismos em sulco de semeadura, sendo eles *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Trichoderma asperelloides*; o segundo experimento, realizado em laboratório, avaliou a sobrevivência de *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* quando em contato com fungicidas recomendados para a cultura da soja; o terceiro experimento avaliou a resposta da cultura a diferentes manejos de controle de doenças foliares utilizando produtos químicos e as bactérias *B. subtilis* e *P. fluorescens*, e mistura de ambos em calda de pulverização. As variáveis avaliadas no primeiro experimento foram: número de nódulos, massa seca dos nódulos, área superficial das raízes, volume e comprimento das raízes, produtividade de grãos, massa de mil grãos e percentual de cobertura do solo. No segundo experimento a variável analisada foi a sobrevivência das bactérias, realizada a partir da contagem de unidades formadoras de colônia; no terceiro experimento foram avaliados percentual de incidência de antracnose nos pecíolos, percentual de desfolha, produtividade de grãos e massa de mil grãos. A utilização de microrganismos em sulco de semeadura nas condições de restrição hídrica não afetou a variável produtividade de grãos. Já sobrevivência das bactérias *B. subtilis* e *P. fluorescens* foi influenciada pelo princípio ativo utilizado. Todavia, as duas bactérias apresentaram eficácia no controle de antracnose da soja, sendo sua utilização recomendada no manejo de doenças da soja.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico. *Glycine max* L. Bactérias promotoras do crescimento.

ABSTRACT

OPTIONS FOR THE USE OF MICROORGANISMS IN GROWTH PROMOTION AND MANAGEMENT OF SOYBEAN DISEASES

AUTHOR: Eduarda Spagnol Bronzatto

ADVISOR: Thomas Newton Martin

The use of microorganisms in soybean cultivation is an option for achieving more sustainable agriculture, as they can promote plant growth and also control diseases that cause a low environmental impact. Therefore, the objective of this research was to study the possibility of coinoculating microorganisms in the furrow of soybean seeds and also different management options for disease control using chemical and biological products and a mixture of both. Three experiments were carried out, the first and third experiments followed a randomized block design and were carried out in the field, while the second experiment was carried out in the laboratory following a completely randomized design. In the first experiment, agronomic interventions in soybean cultivation were evaluated with the application of microorganisms in the seed furrow, including *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* and the fungus *Trichoderma asperelloides*; the second experiment, carried out in the laboratory, evaluated the survival of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* when in contact with fungicides recommended for soybean crops; the third experiment evaluated the crop's response to different foliar disease control treatments using chemicals and the bacteria *B. subtilis* and *P. fluorescens*, and a mixture of both in spray mixture. The evaluations evaluated in the first experiment were: number of nodules, dry mass of nodules, surface area of roots, volume and length of roots, grain productivity, mass of one thousand grains and percentage of soil cover. In the second experiment, the variable proved the survival of bacteria, carried out by counting colony-forming units; In the third experiment, percentage incidence of anthracnose in pieces, percentage of defoliation, grain productivity and mass of one thousand grains were evaluated. The use of microorganisms in sowing furrows under water restriction conditions did not affect the variable grain productivity. The survival of the bacteria *B. subtilis* and *P. fluorescens* was influenced by the active ingredient used. However, both bacteria are effective in controlling soybean anthracnose, and their use is recommended in the management of soybean diseases..

Keywords: Biological control. *Glycine max* L. Growth promoting bacteria.

4 INTRODUÇÃO

A massiva utilização de defensivos agrícolas e de fertilizantes minerais, acarretou em perdas de matéria orgânica do solo, bem como poluição de solos e água, através de processos como acidificação e salinização, além de empobrecimento da biodiversidade natural da rizosfera (KOPITTKE et al., 2019). Além disso, os agrotóxicos quando usados de maneira intensiva podem estimular adaptações dos organismos aos seus princípios ativos, causando problemas de resistência (HAWKINS et al., 2019). Alguns agrotóxicos possuem longos períodos residuais após a sua aplicação, podendo contaminar o ambiente e/ou inviabilizar cultivos subsequentes (ZHICHKINA et al., 2020). Todavia, o emprego dessas práticas agrícolas é recorrente na maioria das propriedades rurais. Sendo necessárias estratégias de manejo com foco na preservação do ecossistema natural dos solos, priorizando soluções de baixo impacto ambiental. Dessa forma, a ecologia da população microbiana junto as sementes devem fomentar o aumento da heterogeneidade de microrganismos benéficos em relação aos patogênicos.

Uma dessas ferramentas que integra questões ambientais e econômicas é o emprego de bioinsumos, que são produtos formulados a partir de microrganismos ou compostos derivados destes que podem ser utilizados como promotores do crescimento, auxiliar na obtenção de nutrientes do solo e controlar pragas e doenças (CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014). A utilização de microrganismos na agricultura já está presente a muitas décadas, contribuindo para mitigar os estresses bióticos e abióticos de plantas, bem como aumentar a produtividade de culturas. O mercado de biossimos vem se desenvolvendo nos últimos anos, evidenciando a busca crescente por soluções de baixo impacto ambiental (MORALES-GARCÍA et al., 2019).

A adição exógena de microrganismos visa a modulação da microbiota do solo, estimulando o estabelecimento de relações benéficas para as plantas (KAUL et al., 2021). De modo geral, os microrganismos podem ser utilizados de duas formas na melhoria do rendimento das culturas. Uma dessas vias é através da aplicação deles no solo visando a promoção do crescimento vegetal, utilizando diferentes mecanismos que vão garantir um maior aporte de nutrientes para as plantas. A inoculação de cepas de *Bradyrhizobium* spp. em soja é um exemplo de relação simbiótica e sustentável do uso de microrganismos. Uma vez que essa associação possibilita a realização da fixação biológica do nitrogênio, e garante o fornecimento desse nutriente para que a planta obtenha elevadas produtividades, sem a necessidade de outras fontes de nitrogênio (VANLAUWE et al., 2019). Outros microrganismos também vêm sendo empregados em coinoculação, como é o caso de *Azospirillum* spp., *Pseudomonas* spp. e *Trichoderma* spp. Estes atuam de forma direta e indireta na promoção crescimento de plantas,

por meio de mecanismos como a solubilização de fosfato, produção de sideróforos e de fitormônios, bem como a indução de resistência sistêmica em plantas (MAHANTY et al., 2017).

Outra forma de uso de bactérias na agricultura se dá pela aplicação foliar desses microrganismos com o objetivo de proteger a planta contra o ataque de patógenos. A utilização dos biopesticidas no controle de doenças ocorre devido a diversos mecanismos de ação diretos e indiretos atribuídos a estes microrganismos. Dentre eles pode-se citar a produção de metabólitos secundários com função antibiótica ou tóxica, secreção de enzimas que causam degradação da parede celular de organismos indesejados e também a indução da resistência sistêmica em plantas (XIANG; LAWRENCE; DONALD, 2018). A eficácia do controle biológico pode ser equiparada a dos produtos químicos, sendo que em certas condições chega a ser superior (CUI et al., 2022). O que faz com que possam ser empregados em estratégias de manejo, em rotação com agrotóxicos, a fim de retardar problemas como o desenvolvimento de resistência de patógenos. Ademais os bioinsumos trazem consigo a vantagem de serem pouco tóxicos, terem alta especificidade contra patógenos, além de rápida decomposição do meio, não tendo problemas com emissão de poluentes (ABDOLLAHDOKHT et al., 2022). Dentre as bactérias com maiores potenciais de uso no biocontrole de doenças de plantas, tem-se as pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*. Isto porque apresentam rápido crescimento com elevada capacidade de colonização, uma vez que utilizam rizodeposição como fonte de alimento, além de possuírem diversos mecanismos de ação para o controle de doenças (HÖFTE; ALTIER, 2010).

Apesar do grande potencial que os microrganismos possuem na melhoria das variáveis agronômicas e no controle de doenças em plantas, a sua utilização combinada em sulco de semeadura e em associação com fungicidas em mistura de calda pode ser melhor esclarecida. Os microrganismos estão em constante interação com meio e entre si, fazendo com que sua sobrevivência possa ser afetada. Dessa forma, objetivou-se com esse trabalho avaliar a inoculação e a coinoculação em sulco de semeadura com os seguintes microrganismos: *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Trichoderma asperelloides*. Bem como, analisar a compatibilidade de *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* quando misturadas com fungicidas, observando as respostas a opções de manejo químico e biológico na incidência de antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e na produtividade de grãos da soja.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 PRIMEIRO EXPERIMENTO: MICRORGANISMOS EM SULCO DE SEMEADURA

O experimento foi realizado durante os anos safras 2021/2022 e 2022/2023 na área didático-experimental pertencente ao departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), na cidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul, localizada a 29° 72' de latitude sul, 53° 73' de longitude oeste, a 116 metros de altitude. De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, o solo da região é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico arênico (SANTOS et al., 2018), enquanto que o clima, segundo a classificação de Koppen é pertencente ao tipo Cfa, ou seja, subtropical de clima temperado chuvoso (ALVARES et al., 2013), com média de 1688 mm de precipitação ao ano. A primeira safra foi semeada no dia 28 de outubro de 2021 e a segunda no dia 04 de novembro de 2022. A cultivar de soja utilizada foi a DM 5958 IPRO, de GMR 5.8 e tipo de crescimento indeterminado, com alto potencial de ramificação e resistente ao acamamento, com massa de mil sementes de 172g. O espaçamento entre fileiras foi de 0,45 m com 15 plantas por metro linear, totalizando uma densidade de semeadura de 333.000 plantas ha⁻¹. A adubação com o fertilizante NPK em ambos os anos foi realizada através de semeadora-adubadora. No primeiro ano foi utilizada a dose de 350 kg ha⁻¹ do adubo na formulação 00-20-30. Na segunda safra foram aplicados 320 kg ha⁻¹ de fertilizante na formulação 0-28-20, conforme recomendação técnica para a cultura da soja seguindo os dados proveniente de análise de solo realizada previamente na área (Tabela 1). O manejo de pragas, doenças e plantas daninhas foi realizado conforme a necessidade.

A área onde os experimentos foram realizados apresenta um histórico de inoculação com a bactéria *Bradyrhizobium japonicum* há pelo menos quatro safras. Sendo que dessa forma, pode-se inferir que essa espécie já esteja presente no solo.

Tabela 1- Análise físico-químicas do solo da área experimental. Santa Maria, RS, 2021 e 2022.

2021													
-----cmol/dm ³ -----				Saturação (%)		m/v			mg/dm ³ ----				
pH água	Ca	Mg	Al	CTC efetiva	MO (%)	Ar- gila (%)	S	P- Mehlich	K	Cu	Zn	B	
0-10	5,5	7,1	3,3	0,0	10,8	2,5	23,0	20,1	23,0	156	0,96	1,48	0,58
10-20	4,6	4,0	2,1	1,5	7,7	1,7	29,0	14,3	7,5	52	1,61	0,55	0,52
2022													
cmol/dm				Saturação (%)		m/v			mg/dm				
pH água	Ca	Mg	Al	CTC efetiva	MO (%)	Ar- gila (%)	S	P- Me- hlich	K	Cu	Zn	B	
0-10	6,0	6,6	3,3	0,0	10,2	2,3	24,0	4,0	20,5	136,0	1,17	1,18	0,34
10-20	5,1	5,0	2,6	0,3	8,1	2,1	31,0	8,3	8,4	80,0	1,22	0,85	0,23

Fonte: Laboratório de Física de Solos, Departamento de Solos (UFSM)

O experimento seguiu o delineamento blocos ao acaso com 4 repetições, tendo parcelas de 7,75m de comprimento e 2,25m de largura, com cinco fileiras, totalizando uma área de 17,4 m² por parcela. A distribuição dos tratamentos está apresentada na Tabela 2. A aplicação dos microrganismos foi realizada via sulco de semeadura com auxílio de equipamento acoplado a semeadora, utilizando volume de calda de 50L ha⁻¹. Os microrganismos utilizados foram: *Bradyrhizobium japonicum* cepa SEMIA 586 (4x10¹⁰ UFC/mL⁻¹), *Azospirillum brasilense* cepa ATCC29145 (1x10⁹ UFC/mL⁻¹), *Trichoderma asperelloides* cepa MMBF 9417 (1x10¹⁰ UFC/g⁻¹) e *Pseudomonas fluorescens* cepa ATCC13525 (3x10⁹ UFC/mL⁻¹). A dosagem utilizada foi de 2 litros por hectare para *B. japonicum*, 0,5g para *T. asperelloides*, 0,6L de *A. brasilense* e 1L para *P. fluorescens*.

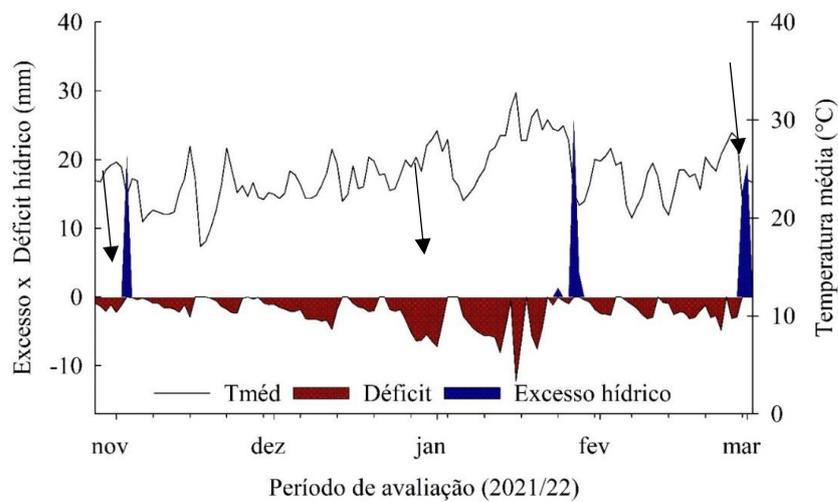
Tabela 2- Tratamentos aplicados em sulco de semeadura. UFSM, Santa Maria (RS), 2021/2022 e 2022/2023.

TRATAMENTOS	
T1	Testemunha (sem aplicação)
T2	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (Bj)
T3	<i>A. brasilense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>T. asperelloides</i> (Ab+Bj+Ta)
T4	<i>A. brasilense</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>T. asperelloides</i> + <i>P. fluorescens</i> (Ab+Bj+Ta+Pf)
T5	<i>B. japonicum</i> + <i>T. asperelloides</i> (Bj+Ta)
T6	<i>B. japonicum</i> + <i>T. asperelloides</i> + <i>P. fluorescens</i> (Bj+Ta+Pf)
T7	<i>T. asperelloides</i> + <i>P. fluorescens</i> (Ta+Pf)

Fonte: Autor (2023)

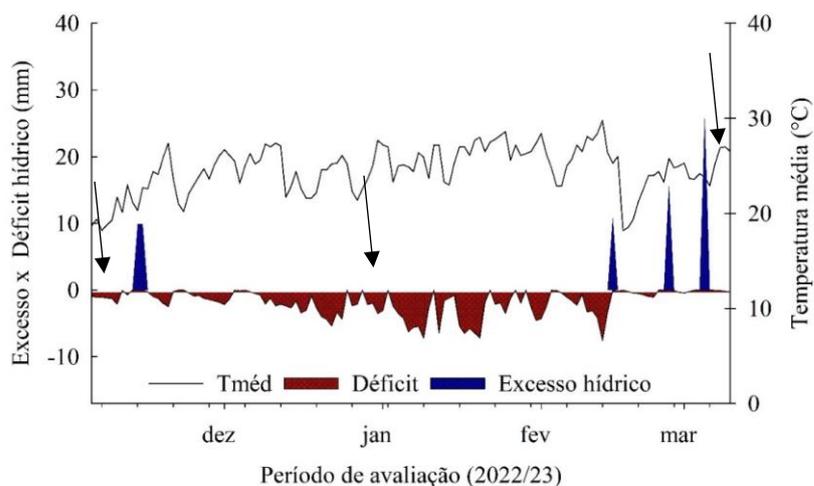
Os dois anos em que os experimentos foram realizados se caracterizaram pelo baixo volume de chuvas. O que pode ser observado pelo intenso déficit hídrico apresentados na Figura 1 e Figura 2.

Figura 1- Gráfico do balanço hídrico e das temperaturas médias durante a safra 2021/22. As setas indicam respectivamente semeadura, florescimento (R1) e colheita.



Fonte: (INMET, 2022)

Figura 2- Gráfico do balanço hídrico e das temperaturas médias durante a safra 2022/23. As setas indicam respectivamente semeadura, florescimento (R1) e colheita.



Fonte: (INMET, 2023)

Durante o estágio fenológico R2 (floração plena: maioria dos racemos com flores abertas - escala de Fehr e Caviness, 1977), foram coletadas aleatoriamente plantas inteiras por unidade experimental a fim de se determinar variáveis radiculares. Com o auxílio de uma pá de corte foi coletado um volume de 20x20x20 cm de solo para que se pudesse remover a planta preservando o sistema radicular. Após esse processo, parte aérea e sistema radicular foram separados, as raízes lavadas e os nódulos destacados, sendo estes contabilizados a fim de se obter o número de nódulos (NN). Os nódulos passam novamente por uma lavagem e então foram submetidos a estufa de circulação forçada de ar a 60°C até atingirem massa constante, e logo após foram pesados em balança de precisão de 0,001g para obtenção da massa seca de nódulos por planta (MSN, g planta⁻¹). Na primeira safra (2021/22) foram coletadas três plantas por parcela, enquanto que na segunda safra (2022/23) o número de plantas utilizadas foi de cinco. Esse fato se deu a fim de que se pudesse obter maior representatividade experimental.

As raízes remanescentes desse processo foram submetidas ao Scanner EPSON Expression 11000 que é equipado com luz adicional, que permite uma varredura em 600 dpi, o que possibilita que sejam estimadas as variáveis área superficial (ASR, cm²), volume (VR, cm³) e comprimento total das raízes (CR, cm). As imagens obtidas foram processadas pelo software WinRhizo© Pro 2013 (Regent instruments, Quebec, Canadá).

O percentual de cobertura do solo (PC, %) foi mensurado durante os estágios fenológicos V4 (terceira folha trifoliada completamente aberta – escala de Fehr e Caviness, 1977) e V8 (sétima folha trifoliada completamente aberta – escala de Fehr e Caviness, 1977). Foram feitas três imagens obtidas a partir de um aparelho celular de cerca de 1,30m de altura da fileira central de cada parcela, que foram processadas pelo aplicativo CANOPEO (PATRIGNANI; OCHSNER, 2015).

A colheita foi realizada quando a planta atingiu a maturação completa (estádio fenológico R8— escala de FEHR; CAVINESS (1977). Foram colhidas e trilhadas as plantas pertencentes as três linhas centrais de cada parcela, totalizando 6,75m², a fim de se determinar a produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹). Os grãos oriundos dessa amostra foram pesados em balança analítica, tendo seu peso sido corrigido com o desconto da umidade, mantendo o padrão de 13%. Foram separados 8 lotes com 100 grãos cada provenientes, essas amostras foram pesadas, a média desses valores foi calculada e multiplicada por 10, a fim de obter a massa de 1000 grãos (MMG, g).

5.2 SEGUNDO EXPERIMENTO: COMPATIBILIDADE ENTRE BACTÉRIAS E

FUNGICIDAS *IN VITRO*

O experimento foi realizado no laboratório Multibac, localizado na área didático-experimental do Grupo Coxilha na Universidade Federal de Santa Maria. Com a finalidade de observar *in vitro* a sobrevivência das bactérias *Pseudomonas fluoresces* e *Bacillus subtilis* quando em contato direto com diferentes fungicidas. Os tratamentos consistiam na mistura de um fungicida e uma bactéria e seguiram o delineamento inteiramente casualizado com três repetições, sendo descritos na Tabela 3. As bactérias foram utilizadas na dose de 1L, sendo elas *Pseudomonas fluoresces* cepa ATCC 13525 na concentração $1,1 \times 10^8$ UFC/ mL⁻¹ e *Bacillus subtilis* cepa ATCC 6051 na concentração $1,2 \times 10^8$ UFC mL⁻¹. Os fungicidas testados foram produtos comerciais formulados com os seguintes ingredientes ativos picoxistrobina+ciproconazol (300 mL ha⁻¹), trifloxistrobina+protioconazol (500 mL ha⁻¹), mancozebe (3kg ha⁻¹), difeconazol (300mL ha⁻¹), carbedazim (500mL ha⁻¹), picoxistrobina+benzovindiflupir (600 mL ha⁻¹), e impirfluxam+tebuconazol (750 mL ha⁻¹).

A variável observada foi a sobrevivência das bactérias, obtida através da quantificação do número de unidades de colônia por mililitro de produto (UFC/mL⁻¹). Para isto, foi utilizando o método da diluição seriada. Dessa forma, o primeiro passo foi a obtenção da solução estoque, que consistia em uma simulação de uma mistura de calda, adicionando a bactéria, o fungicida e água deionizada em um recipiente de modo a formar um volume de 100mL de calda. Essa solução foi homogeneizada e após transcorrido uma hora, retirou-se uma alíquota de 1000µL dessa amostra com o auxílio de uma pipeta. Esse volume foi transferido para um tubo de ensaio previamente preenchido com 9 ml de solução salina. Este primeiro tubo correspondia a concentração 10⁻¹. O tubo de ensaio foi agitado por 10 segundos com o auxílio de agitador vortex e então foi retirada uma segunda amostra de 1000 µL e depositada no tubo de ensaio subsequente. O processo foi repetido sucessivamente até que se obtivesse diluições até a ordem de 10⁻⁸. Com o auxílio de uma pipeta foram retiradas de cada uma dessas diluições amostras de 100µL, que foram depositadas em placas de petri de 8,0 cm de diâmetro contendo meio de cultura ágar nutriente já solidificado. Com o auxílio de um bastão de vidro (alça de Drigalski), a amostra foi espalhada de forma homogênea sobre a superfície da placa. Após o processo de inoculação, as placas foram vedadas com plástico filme e acondicionadas em câmaras de germinação (B.O.D.), com temperatura regulada em (30 ± 2°C), umidade relativa de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro. A avaliação do crescimento de cada microrganismo foi feita a cada 24h, através da contagem de colônias crescidas em cada planca. O crescimento foi monitorado até que se teve uma estabilização no número de colônias formadas.

Tabela 3- Distribuição dos tratamentos do segundo experimento- compatibilidade entre bactérias e fungicidas in vitro.

Ordem	TRATAMENTOS
1	Bactéria + água
2	Bactéria + picoxistrobina + ciproconazol
3	Bactéria + trifloxistrobina + protioconazol
4	Bactéria + mancozebe
5	Bactéria + difenoconazol
6	Bactéria + carbendazim
7	Bactéria + picoxistrobina + benzovindiflupir
8	Bactéria + impirfluxam + tebuconazol

Fonte: Autor (2023)

5.3 TERCEIRO EXPERIMENTO: MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA UTILIZANDO CONTROLE QUÍMICO E BIOLÓGICO

Os experimentos foram conduzidos na área didático-experimental do departamento de fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, localizada na cidade de Santa Maria RS, Brasil (29°42'59,6"S, 53°43'30,3"W) durante a safra 2022/2023. O solo dessa região é classificado como Vermelho Distrófico Arênico e o clima é descrito como pertencente ao tipo Cfa (ALVARES, 2013). A cultivar DM 5958 IPRO foi semeada no dia 04 de novembro de 2022 em fileiras espaçadas de 0,45 m com densidade de 300.000 plantas ha⁻¹. A adubação foi realizada pela semeadora-adubadora com 320kg ha⁻¹ do fertilizante NPK (0-28-20). As sementes foram tratadas com clorantraniliprole (100ml ha⁻¹), metalaxil-M + fludioxonil (100mL ha⁻¹) e tiametoxam (200mL ha⁻¹). Em sulco de semeadura, realizou-se a inoculação com *Azospirillum brasilense* (600mL ha⁻¹) e *Bradyrhizobium japonicum* (2000 mL ha⁻¹). Antes da semeadura o manejo de plantas daninhas foi feito através da pulverização de glufosinato-sal de amônio, na dose de 1,5 kg ha⁻¹. Após a semeadura foi aplicado diquate + monoetilenoglicol na dose de 2L ha⁻¹. Conforme a necessidade, foi realizado o controle químico de insetos.

Nesse experimento foram testados manejos para o controle de doenças da soja, envolvendo ferramentas químicas e biológicas e a mistura de ambas em calda de pulverização. Os tratamentos estão descritos na Tabela 4. As aplicações foliares foram realizadas no final da

tarde, em espaços de 20 dias, utilizando pulverizador costal elétrico da marca Lynus com barra acoplada de quatro pontas, o bico utilizado foi o tipo cone cheio, com volume de 100L ha⁻¹. Foram utilizados dois fungicidas sistêmicos indicados para o controle de doenças foliares nas sojas, sendo eles fungicida 1 (trifloxistrobina + protioconazol), na dose de 500 mL ha⁻¹ e fungicida 2 (picoxistrobina + ciproconazol), na dose de 300 mL ha⁻¹. As bactérias utilizadas foram *Bacillus subtilis* cepa ATCC 6051, na concentração 2x10¹⁰ UFC mL⁻¹ e *Pseudomonas fluoresces*, cepa ATCC 13525 na concentração de 2x10¹⁰ UFC mL⁻¹.

Tabela 4- Distribuição dos tratamentos do terceiro experimento - manejo de doenças em soja utilizando controle químico e biológico.

Tratamentos	1ª aplicação (24 DAE)	2ª aplicação (46 DAE)	3ª aplicação (66 DAE)	4ª aplicação (100 DAE)
T1	B	B	B	B
T2	B + T+P	B + T+P	B + P+C	B + P+C
T3	T+P, 3 dias B	T+P, 3 dias B	P+C; 3 dias B	P+C; 3 dias B
T4	T+P	T+P	P+C	P+C
T5	B	T+P	P+C	P+C
T6	B	B	P+C	P+C
T7	B	B	B	P+C
T8	B	T+P	B	P+C

B (Bactéria); T+P (Trifloxistrobina + Protioconazol); P+C (Picoxistrobina + Ciproconazol)
Fonte: Autor (2023)

No estágio fenológico R5.5 (FEHR; CAVINESS, 1977) quando constatada a presença de sintomas de *Colletotrichum truncatum*, fungo causador da antracnose, no experimento realizou-se a avaliação da incidência dessa doença nos pecíolos da planta de soja. Para isto, foram coletas cinco plantas por parcela, sendo que em cada uma dessas plantas realizou-se a contagem do número total de pecíolos e do número de pecíolos doentes. Para a estimativa do percentual de incidência de antracnose nos pecíolos, foi realizada a divisão do número de pecíolos com sintoma (PD) pelo número de pecíolos totais (PT). Para a avaliação do percentual de desfolha, foram contabilizados o número total de nós da planta (NTN), e o número de folhas (NF) sendo esses valores transformados em porcentagem através da divisão do NF/NTN (PESQUEIRA; BACCHI; GAVASSONI, 2016).

Para a quantificação dos parâmetros produtivos foi realizada a colheita de 6,75m² de cada unidade experimental quando a planta atingiu a maturação completa (estádio fenológico R8 (FEHR; CAVINESS, 1977). As plantas oriundas dessa amostra foram trilhadas e os grãos proveniente foram pesados em balança analítica, e sendo esse valor corrigido para 13% de

umidade. Posteriormente, foram retiradas 8 amostras com 100 grãos cada, essa amostra foi pesada e a média encontrada foi utilizada a fim de se obter a massa de 1000 grãos.

5.4 ANALISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através de estatísticas de posição e dispersão, e submetidas a análises de variância a 5% de probabilidade de erro (teste F). Para os efeitos significativos foram feitas as análises separação das médias pelo método de agrupamentos de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro através do software R (R CORE TEAM, 2020).

6 RESULTADO E DISCUSSÕES

Segundo o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2022), as safras 2021/22 e 2022/23 foram marcadas pela presença do evento climático *La Niña*, causado pelo resfriamento das águas do oceano Pacífico. Na região sul do Brasil, onde o experimento foi instalado, a ocorrência desse fenômeno é caracterizada pela redução na precipitação (ROPELEWSKI; HALPERT, 1989). A normal climatológica para os meses de outubro a março para a cidade de Santa Maria (RS), corresponde a um volume de chuvas de 981 mm (ECMWF, 2023). Contudo, para o mesmo período durante a safra 2021/22, o volume total de chuvas foi de 645,8 mm, enquanto que para a segunda safra (2022/23) o total acumulado foi de 429,3 mm (INMET, 2022).

6.1 PRIMEIRO EXPERIMENTO: MICRORGANISMOS EM SULCO DE SEMEADURA. SAFRAS 2021/22 E 2022/23.

Na primeira safra (safra 2021/22) houve efeito significativo para as variáveis número de nódulos, volume e comprimento de raízes e massa de mil grãos. Já na segunda safra (2022/23), as variáveis comprimento das raízes e percentual de cobertura do solo no estágio V₄ apresentaram diferenças estatísticas.

Tabela 5- Resumo da análise de variância com os quadrados médios para as variáveis: número de nódulos (NN), massa de nódulos (MN, g), área superficial das raízes (ASR, cm²), volume das raízes (VR, cm³), comprimento das raízes (CR, cm), percentual de cobertura do solo no estágio V₄ (PCV₄, %) e no estágio V₈ (PCV₈, %), produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹) e massa de mil grãos (MMG, g).

2021/2022											
FV	GL	NN	MN	ASR	VR	CR	GL	PCV ₄	PCV ₈	PG	MMG
Tratamento	6	356,60 (0,00)*	0,005 (0,23) ^{ns}	2011,35 (0,05) ^{ns}	0,26 (0,03)*	103195 (0,01)*	6	8,47 (0,50) ^{ns}	39,00 (0,12) ^{ns}	23586 (0,83) ^{ns}	562,97 (0,00)*
Bloco	2	148,04 (0,11) ^{ns}	0,003 (0,40) ^{ns}	89,78 (0,87) ^{ns}	0,02 (0,75) ^{ns}	20048 (0,45) ^{ns}	3	99,81 (0,00)*	34,01 (0,20)*	50458 (0,42) ^{ns}	49,34 (0,03)*
Média		50,05	0,19	191,50	2,30	1146,27		42,74	74,78	2178,96	163,54
CV (%)		15,01	29,47	13,58	12,09	13,23		7,11	5,97	10,48	2,24
2022/2023											
Tratamento	6	202,08 (0,32) ^{ns}	0,002 (0,56) ^{ns}	5589,1 (0,23) ^{ns}	1,22 (0,82) ^{ns}	109291 (0,00)*		47,37 (0,00)*	16,23 (0,56) ^{ns}	166556 (0,07) ^{ns}	79,72 (0,34) ^{ns}
Bloco	3	479,01 (0,05)*	0,009 (0,06) ^{ns}	15028,2 (0,02)*	12,51 (0,01)*	28128 (0,25) ^{ns}		61,65 (0,00)*	17,07 (0,47) ^{ns}	267304 (0,02)*	18,10 (0,84) ^{ns}
Média geral		55,18	0,25	239,79	6,04	738,89		43,97	66,08	3474,82	185,24
CV (%)		22,95	22,84	25,39	26,95	18,59		6,35	6,71	7,68	4,39

* e ns, significativo a 5% e não significativo respectivamente, pelo teste F; FV: fonte de variação

Fonte: Autor (2023)

A coinoculação com microrganismos em soja visa a obtenção de benefícios para a planta, otimizando os processos microbianos e fazendo com que a planta utilize de forma mais eficiente os recursos da rizosfera. A utilização de bactérias promotoras do crescimento de plantas (*Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*), de bactérias diazotróficas (*Bradyrhizobium japonicum*) e de fungos entomopatogênicos (*Trichoderma asperelloides*), atendem esses objetivos. Uma das relações simbióticas de maior sucesso na natureza é a interação entre leguminosas e estirpes de *Bradyrhizobium* spp. Quando a infecção ocorre de maneira bem-sucedida, é possível observar nas raízes da soja pequenas deformações, que são estruturas conhecidas por nódulos. No seu interior é onde ocorrer o processo de fixação biológica do nitrogênio. De acordo com Hungria; Campo; Mendes (2007) para que uma planta seja considerada bem nodulada e apta a fornecer todo o nitrogênio necessário para a realização dos seus processos fisiológicos ela deve possuir de 15 a 30 nódulos, valores estes inferiores aos encontrados nos dois anos de experimento (

Tabela 6). Na primeira safra (2021/22) houve incrementos de cerca de 18 nódulos para o tratamento T4 (Bj + Ta + Ab + Pf), e de 16 nódulos no T7 (Ta + Pf), em relação a testemunha não inoculada. A elevada nodulação em todos os tratamentos, inclusive naqueles sem a presença de *B. japonicum* reforça os dados encontrados por Hungria et al (2007) que apontam que em solos com histórico de inoculação frequente, o que é o caso da área utilizada, a população de *Bradyrhizobium* spp. tende a se manter elevada, permitindo que ocorra a nodulação em níveis adequados. A comunidade de *Bradyrhizobium* spp. pode chegar a 10^6 bactérias por grama de solo em áreas onde o processo de inoculação é recorrente (HUNGRIA; MENDES, 2015).

Tabela 6- Número de nódulos (NN), massa de nódulos (MN, g), área superficial das raízes (ASR, cm²), volume das raízes (VR, cm³), comprimento das raízes (CR, cm), percentual de cobertura do solo V₄ (PCV₄, %) e em V₈ (PCV₈, %), produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹) e massa de mil grãos (MMG, g).

	NN	MN	ASR	VR	CR	PCV ₄	PCV ₈	PG	MMG
2021/2022									
Sem inoculação	47,22 b	0,19	168,91	2,48 a	915,25 b	42,79	74,70	2069,92	159,59 c
Bj	45,44 b	0,25	205,10	2,56 a	1309,56 a	41,31	75,55	2249,55	161,28 c
Ab + Bj + Ta	49,66 b	0,19	193,29	2,45 a	1355,75 a	43,63	75,13	2148,17	177,34 a
Ab + Bj + Ta + Pf	65,3 a	0,15	143,70	1,74 b	941,63 b	41,26	72,16	2278,62	140,61 d
Bj + Ta	34,22 b	0,13	205,85	2,36 a	1216,18 a	41,35	72,11	2168,30	165,49 b
Bj + Ta + Pf	45,22 b	0,21	210,15	2,21 a	1139,22 a	44,55	72,74	2229,56	172,87 a
Ta + Pf	63,33 a	0,22	213,52	2,63 a	1350,24 a	44,31	81,07	2108,61	167,62 b

2022/2023									
Sem inoculação	41,66	0,22	283,74	6,86	844,15 a	48,20a	69,50	3820,43	185,04
Bj	57,95	0,26	218,96	5,65	683,58 b	41,31 b	63,70	3459,12	192,72
Ab + Bj +Ta	49,90	0,22	204,23	5,60	759,56 a	44,13 b	64,77	3357,22	184,79
Ab + Bj +Ta +Pf	57,70	0,24	189,38	5,52	518,93 b	48,62 a	66,75	3479,05	185,02
Bj +Ta	57,90	0,28	279,07	5,81	845,73 a	41,03 b	67,39	3242,40	188,74
Bj +Ta +Pf	63,13	0,26	237,60	6,08	549,57 b	44,46 b	64,32	3659,03	180,23
Ta +Pf	58,00	0,28	265,58	6,74	970,69 a	40,03 b	66,13	3306,48	180,14

**Bradyrhizobium japonicum* (Bj); *Trichoderma asperelloides* (Ta); *Azospirillum brasilense* (Ab); *Pseudomonas fluorescens* (Pf)

**Letras minúsculas distintas na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

Fonte: Autor (2023)

Contudo, a variável massa de nódulos não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O que pode estar ligado com a capacidade fisiológica que a planta possui em compensar o tamanho dos nódulos. Uma vez que esse processo tem um alto custo energético para a planta. Em virtude desse gasto de ATP, as leguminosas desenvolveram um sistema de autorregulação sistêmica, inibindo a síntese de hormônios necessários no local da nodulação (SWARUP; JOHNS; PANDEY, 2019). A restrição hídrica também pode afetar esse processo, uma vez que limitações no fornecimento de água durante o período reprodutivo acarretaram em redução no número e na massa seca de nódulos, e também no rendimento de grãos (NASCIMENTO; PRETE; NOGUEIRA, 2016). Apesar de haver diferença no número de nódulos, essa significância não foi refletida na produtividade. Resultados semelhantes foram encontrados por Zeffa et al. (2020), que constatou que a coinoculação apesar de melhorar parâmetros como número e massa de nódulos não interferiu no rendimento de grãos. A falta de chuvas pode também interferir na ação da enzima nitrogenase, responsável pela fixação do nitrogênio, reduzindo o aporte desse nutriente (HUNGRIA; VARGAS, 2000), fazendo com que a planta não conseguisse expressar todo o seu potencial genético.

A atividade microbiana no solo é mediada por fatores como umidade e temperatura do solo, sendo estes primordiais para o crescimento e diversificação da microbiota (ABDUL RAHMAN; ABDUL HAMID; NADARAJAH, 2021). Os experimentos realizados na primeira (2021/22) e segunda safra (2022/23) foram caracterizados pela distribuição escassa e irregular de chuvas (Figura 1 e Figura 2). O estresse hídrico afeta a disponibilidade e absorção de nutrientes e enzimas, tendo um impacto direto na produtividade dos grãos (JABBOROVA et al., 2021). A redução no volume de chuvas ocorrido durante os dois anos de experimento refletiu na redução da produção de grãos, sendo que a produtividade média do experimento na safra de 2021/22 foi de 2.242,90 kg ha⁻¹, inferior a produtividade nacional de 3.029 kg ha⁻¹ (CONAB,

2022). Já na segunda safra (2022/23), a produtividade média do experimento foi de 3.474,82 kg ha⁻¹, enquanto que a média nacional foi de 3.532 kg ha⁻¹ (CONAB, 2023). Os efeitos de intenso estresse hídrico na planta podem desencadear diferentes respostas fisiológicas, dentre elas, o abortamento de flores e vagens, o que irá resultar em redução no potencial produtivo das culturas (SILVA; CANTERI; SILVA, 2013), podendo chegar a perdas de rendimento de até 70% (MERTZ-HENNING et al., 2018). De acordo com a teoria do equilíbrio funcional, as plantas possuem a capacidade de ajustar o seu crescimento de modo a expandir a captação do recurso mais limitante (CANNELL; DEWAR, 1994). Quando há pouca disponibilidade de água no sistema, as plantas alocam maior quantidade de carbono para o desenvolvimento do seu sistema radicular, a fim de promover o alongamento das suas raízes, explorando uma maior quantidade de solo (METCALFE et al., 2008). A utilização de microrganismos corrobora para a mitigação dos efeitos da restrição hídrica, como é caso de *Trichoderma* spp, que nessas condições pode afetar positivamente na nodulação da soja, bem como estimular o crescimento vegetativo através da liberação de metabólitos secundários (NAHRAWY; ELBAGORY; OMARA, 2020).

A arquitetura morfológica do sistema radicular diz respeito a parâmetros como comprimento, área, espessura e distribuição das raízes no solo. São essas variáveis que irão determinar o potencial de exploração do solo em busca de água e nutrientes (GIEHL; GRUBER; VON WIRÉN, 2014). As bactérias do gênero *Azospirillum* são comumente conhecidas pela sua ação na promoção do crescimento e na ramificação de raízes, otimizando a eficiência destas (MOLINA-FAVERO et al., 2008). Esse efeito na modulação do crescimento radicular se dá através da secreção de reguladores do crescimento vegetal, tais como auxinas e etileno, além de moléculas sinalizadoras, como o óxido nítrico (RONDINA et al., 2020). Outros microrganismos também podem atuar na promoção do crescimento da parte radicular da planta, como *Pseudomonas* spp. através da síntese de fitormônios, sendo a auxina o principal, e de sideróforos (DAVID; CHANDRASEHAR; SELVAM, 2018). Além dessas bactérias, a utilização de *Trichoderma* spp. também pode acarretar em incrementos do sistema radicular, sendo que a colonização de raízes por esse fungo benéfico pode levar a indução da expressão de genes associados a mitigação de estresses abióticos, acarretando na produção de ácido abscísico e etileno (POVEDA, 2020).

Contudo, em algumas situações, o emprego de microrganismos pode não trazer os efeitos desejados na promoção do crescimento de plantas. Conforme pode-se observar na

Tabela 6, na primeira safra (2021/22) para a variável volume radicular o T4 (Ab + Bj+ Ta + Pf) apresentou média 32% inferior em relação a média geral para essa variável. Isto pode ter ocorrido devido a competição entre os múltiplos microrganismos empregados nesse

tratamento, uma vez que estes possuem diferentes necessidades metabólicas. As dinâmicas de interações entre os microrganismos ainda não estão bem elucidadas pela pesquisa. Porém estas inter-relações podem ser um desafio na manutenção de populações adequadas desses organismos no solo. O T4 (Ab + Bj+ Ta+ Pf) em conjunto com a testemunha não inoculada também apresentou menores médias para a variável comprimento radicular, sendo que neste caso a redução foi de 35% inferior a média geral da variável. O melhor desempenho dos tratamentos que receberam inoculação ou coinoculação com até três microrganismos na variável comprimento radicular pode estar relacionado com o estresse causado pela falta de chuvas durante a primeira safra (2021/22). Neste mesmo ano safra, o T7 (Ta + Pf) resultou em incremento no crescimento radicular de 47% em relação a testemunha não inoculada. A utilização de BPCP tem efeito comprovado no estímulo ao crescimento de raízes, podendo chegar a um aumento de 6% na massa seca da raiz em condições de seca (RUBIN; VAN GROENIGEN; HUNGATE, 2017). Estudos de Nahrawy et al. (2020), demonstraram ganhos no comprimento, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz de plantas de soja em condições de déficit hídrico quando houve a coinoculação de cepas de *Trichoderma* spp. e *Bradyrhizobium* spp., em relação a tratamentos com apenas a inoculação de um microrganismo isolado. A mitigação do estresse hídrico realizada por BPCP se dá pela alteração na morfologia radicular, envolvendo a produção de exopolissacarídeos (EPS), fitormônios, 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase e compostos voláteis, também age na regulação de genes responsivos ao estresse, no acúmulo de antioxidantes e osmólitos. (VURUKONDA et al., 2016). Já na segunda safra (2022/23), o comprimento radicular apresentou maiores médias nos tratamentos: testemunha (sem inoculação), T3 (Ab + Bj +Ta), T5 (Bj + Ta) e T7 (Ta + Pf).

Observando as médias gerais das variáveis (Tabela 5), é possível perceber que na primeira safra (2021/22) obteve-se médias superiores para a variável comprimento radicular em relação a segunda safra (2022/23). Contudo para as variáveis volume e área superficial de raízes houve situação inversa. Isso demonstra, que no segundo ano do experimento, as raízes foram menores, porém de maior diâmetro. Isso pode estar correlacionado ao fato que na segunda safra (2022/23) houve um volume acumulado de chuvas 50,4% inferior ao mesmo período do ano anterior. O crescimento radicular é consideravelmente menor em solos mais secos (METCALFE et al., 2008), isso porque uma das respostas da planta ao estresse hídrico é o fechamento de estômatos, fazendo com que haja redução na difusão de CO₂ dentro do vegetal e conseqüentemente na taxa fotossintética (AHLUWALIA; SINGH; BHATIA, 2021), acarretando em uma redução na produção de biomassa radicular. Além disso, a redução da pressão de turgor radicular, em decorrência de um solo mais seco, faz com que o solo se adense.

A combinação desses dois fatores pode levar em uma maior dificuldade de penetração do solo pelas raízes (BENGOUGH et al., 2006). Em milho, o efeito simultâneo de estresse hídrico e térmico provocaram uma redução do rendimento da cultura, levando a um encurtamento do sistema radicular e decréscimo na produtividade de grãos (HUSSAIN et al., 2019). Além disso, as bactérias presentes no solo também são afetadas pelo estresse hídrico, uma vez que a competição por recursos aumenta bem com o estresse osmótico desses microrganismos (NGUMBI; KLOPPER, 2016).

Na primeira safra (2021/2022) para a variável massa de mil grãos os tratamentos T3 (Ab + Bj +Ta) e T6 (Bj +Ta +Pf) foram os que apresentaram as maiores médias, gerando um aumento de 11% e 8% respectivamente na massa dos grãos, em relação a testemunha não inoculada. Valores superiores aos encontrados por Moretti et al. (2020), que constatou aumento de 3,7% para a massa de 1000 sementes quando a soja foi coinoculada com diferentes estirpes de *Azospirillum* spp. e *Bradyrhizobium* spp. enriquecidas com metabólitos secundários microbianos. Além disso, após o período do florescimento, durante a safra 2021/22 houveram precipitações pluviométricas, que reduziram, em partes, o estresse da planta, fazendo com houvesse a translocação de fotossintatos para o grão.

No segundo ano de experimento (safra 2022/2023), houveram maiores médias para a variável percentual de cobertura do solo no estágio V₄, para os tratamentos testemunha e T4 (Ab + Bj +Ta +Pf). Contudo, essa diferença estatística de cobertura do solo não se refletiu no estágio V₈, o que aponta que a apesar dos diferentes tratamentos a planta conseguiu estabilizar os seu crescimento e desenvolver parte área igualmente. Estudos de Rubin et al. (2017), demonstraram que a coinoculação foi mais eficaz do que a inoculação para o incremento de massa de parte área, além de que a utilização de BPCP foi mais eficaz em leguminosas do que em gramíneas.

Para que os microrganismos consigam se estabelecer no solo e desenvolver uma relação simbiótica com a planta existem uma série de condicionantes bióticos e abióticos que vão interferir no sucesso da relação planta-microrganismo. Diferentes respostas da planta à coinoculação podem ocorrer devido a algumas variáveis, tais como a forma de introdução desses microrganismos no solo, a cepa bacteriana utilizada, bem como a formulação do inoculante, a cultivar utilizada e também as condições ambientais (BARBOSA et al., 2021). A rizosfera é estabelecida pelo espaço de solo ocupado por raízes colonizadas por microrganismos que interagem com a planta, sendo que essa microbiota é vital para auxiliar a planta a suportar estresses bióticos e abióticos (SOHN et al., 2021). Os microrganismos são atraídos pelas raízes mediante a liberação de exsudatos, que atuam como moléculas sinalizadoras e quimioatraentes,

servindo também como fonte nutricional para a microbiota. Estima-se que as plantas são capazes de liberar de 5 a 21% de fotoassimilados de carbono na forma de açúcares solúveis, metabólitos secundários e aminoácidos (LU et al., 2018). Essa dinâmica da interação entre raízes e microrganismos contribui para a modulação de uma comunidade bacteriana benéfica para a planta, que vai acarretar em melhorias no uso dos recursos do meio, a tolerar o ataque de patógenos, bem como auxiliar na síntese de hormônios promotores do crescimento (BERENDSEN; PIETERSE; BAKKER, 2012).

De forma geral a introdução de microrganismos em sulco de semedura nos dois anos em que o experimento foi realizado não resultou em incrementos na produtividade em relação a testemunha não inoculada. Isso pode ter ocorrido em função da falta de chuvas, que não permitiu que os microrganismos conseguissem atingir o seu pleno potencial. Estudos de Silva et al.(2019) demonstraram que em condições de estresse hídrico severo, a coinoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense*, apesar de aumentar a nodulação da soja, não conseguiu suprimir o abortamento de vagens. Além disso a área onde o experimento foi instalado apresenta um longo histórico de inoculação e coinoculação com microrganismos benéficos. Sendo assim é possível que estas populações já estejam em concentrações adequadas para que sejam capazes de surtir os efeitos desejados na planta. Contudo, são necessários mais estudos a fim de entender a real interferência que um microrganismo exerce no metabolismo do outro, principalmente quando são realizadas coinoculações com gêneros distintos.

6.2 SEGUNDO EXPERIMENTO: COMPATIBILIDADE ENTRE BACTÉRIAS E FUNGICIDAS *IN VITRO*

Para o experimento testando a compatibilidade entre bactérias e fungicidas em laboratório houve efeito significativo na sobrevivência das bactérias *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis* quando misturadas aos diferentes produtos testados (Tabela 7).

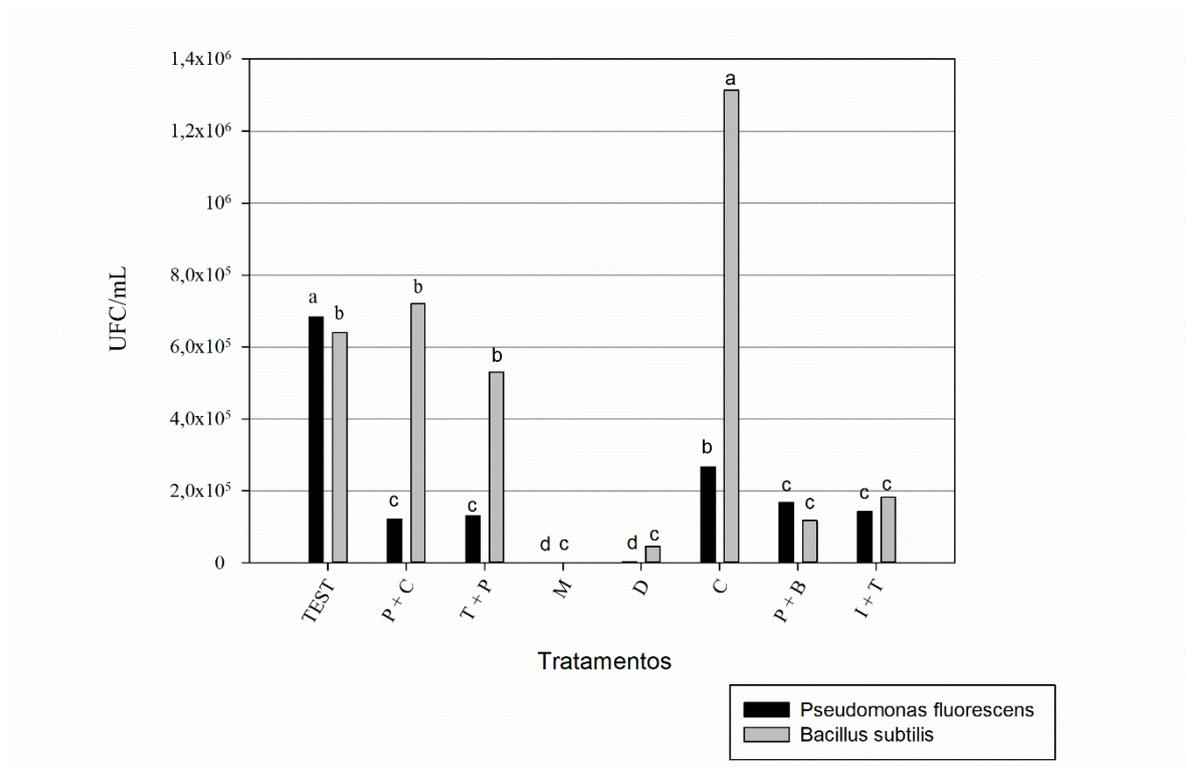
Tabela 7- Resumo da análise de variância para a taxa de sobrevivência de bactérias quando misturadas a fungicidas (UFC/mL⁻¹).

FV	GL	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Tratamento	7	142.000.000.000 (0,00)*	603.000.000.000 (0,00)*
Média geral		189.321	443.625
CV (%)		17,5	20,76

* significativo a 5%, pelo teste F; FV: fonte de variação
Fonte: Autor (2023)

Houve redução significativa da sobrevivência de *P. fluorescens* quando misturada a todos os produtos formulados a partir de ingredientes ativos, indicando que essa bactéria apresenta uma maior sensibilidade ao ser exposta aos componentes químicos. Para a mistura com o produto formulado a partir do ingrediente ativo difenoconazol a redução no crescimento de colônias de *P. fluorescens* foi 265 vezes menor em relação a testemunha. Para *B. subtilis*, houveram diferentes respostas no crescimento bacteriano. Sendo que a mistura com os produtos formulados a partir dos ingredientes ativos picoxistrobina + benzovindiflupir e impirfluxam + tebuconazol resultou em uma redução de respectivamente 4,42 e 2,5 vezes no número de colônias de *B. subtilis* formadas, já o contado desta bactéria com o produto formulado a partir do ingrediente ativo carbedazim propiciou um aumento de 105% no número de colônias formadas (Figura 3).

Figura 3- Médias para a variável sobrevivência das bactérias quando em mistura com fungicidas (UFC/ mL⁻¹)



* Letras minúsculas distintas nas barras diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro

**TEST (Bactéria pura), P + C (Picoxistrobina + Ciproconazol), T + P (Trifloxistrobina + Protiocanazol), M (Mancozebe), D (Difenoconazol), C (Carbendazim), P + B (Picoxistrobina + Benzovindiflupir) e I + T

(Impirfluxam + Tebuconazol).

Fonte: Autor (2023)

Este incremento no número de colônias pode ter sido causado por uma possível habilidade da bactéria em degradar algum componente do fungicida, usando este como alimento. Como é o caso do fungo *Alternaria alternata* que é capaz de utilizar carbedazim como fonte de carbono, promovendo aumento da sua biomassa quando em contato com este fungicida (SILVA et al., 1999). Esse crescimento ocorre devido a capacidade deste fungo de sintetizar enzimas que vão atuar quebrando as moléculas do produto químico, utilizando-as como substrato para a sua multiplicação (ALEXANDER, 1999). Ademais, sabe-se que o gênero *Bacillus* possui atividade de bioremediação de solos, ou seja, realiza a biodegração de compostos, realizando a quebra destes em unidades reutilizáveis (MOHSIN et al., 2021). Estudos de Song e Hwang, (2023) evidenciaram que *in vitro*, a bactéria *Bacillus velezensis* cepa HY-3479 apresentou uma taxa de degradação do ingrediente ativo carbedazim de 76,99%, sendo esta ação atribuída ao aumento nos níveis de expressão gênica dos genes *mhel* e *hdx*, relacionados com a biodegradação deste ingrediente ativo.

Para os produtos formulados a partir dos ingredientes ativos picoxistrobina + ciproconazol e trifloxistrobina + protioconazol a sobrevivência de *B. subtilis* foi igual à testemunha (sem a presença de fungicidas). Em estudo de laboratório, *B. subtilis*, cepa PSB5, apresentou elevada sobrevivência quando inoculado em placa de petri com meio de cultura misturado ao fungicida Kresoxim metil, mesmo em altas concentrações deste ingrediente ativo (2000 ppm). No mesmo estudo, essa bactéria teve uma sobrevivência moderada (crescimento de 50% em relação ao controle) quando em contato aos fungicidas carbendazim, fosetyl aluminium difenoconazol, azoxistrobina e tebuconazol em dosagens moderadas do produto químico (250-500 ppm), porém não sobreviveu quando em contato com Tebuconazole + Trifloxystrobin. (SUNEETA et al., 2016). A maior tolerância dessa bactéria aos produtos formulados a partir dos ingredientes ativos testados, pode estar relacionada ao fato que o gênero *Bacillus* é caracterizado por formar estruturas de resistência, chamada endósporos. Os endósporos permitem uma maior resistência a estresses do meio, como variações de temperatura pH, ou contato com agrotóxicos (BAHADIR; LIAQAT; ELTEM, 2018).

Contudo, quando em mistura com produtos formulados a partir do ingrediente ativo mancozeb não houve sobrevivência de nenhuma das bactérias testadas, evidenciando a intolerância de ambas ao produto formulado a partir desse ingrediente ativo. Para *Bradyrhizobium* sp cepa USDA 3187 o contato com mancozeb acarretou em redução de 50% na taxa de crescimento bacteriano, causando efeitos sobre a composição química da bactéria, o

que levou a alterações na interação deste microrganismo com raízes de plantas de amendoim (CASTRO et al., 1997; FABRA et al., 1998).

Em estudo de laboratório avaliando a sobrevivência de *P. fluorescens* quando exposta a três produtos comerciais a base de fungicidas, sendo eles produto 1 (tiabendazol + fludioxonil + metalaxil-m + azoxistrobina), produto 2 (ipconazole + metalaxil) e produto 3 (ipconazole + metalaxil m + carboxin), utilizando escala de compatibilidade proposta por Suneeta et al. (2016), observou-se alta sobrevivência da bactéria (semelhante à testemunha) quando esta foi posta em meio de cultura com a presença de fungicidas em doses de até 1000 mg L⁻¹. Com exceção para o produto 1 (tiabendazol + fludioxonil + metalaxil-m + azoxistrobina) onde a sobrevivência da bactéria foi classificada como moderadamente compatível, uma vez que cresceu 50% em relação ao controle (FERNANDEZ; TORASSA; PÉREZ, 2021). Resultados semelhantes foram encontrados por Merjan et al. (2019) quando inoculou *P. fluorescens* em meio de cultura contendo a metade da dose recomendada dos ingredientes ativos carboxin e raxil, não havendo diferença significativa do crescimento microbiano em relação à testemunha livre de fungicidas. Ademais, a tolerância de algumas bactérias em relação a certos fungicidas pode estar relacionado ao fato de que esses agrotóxicos terem seu modo de ação voltado para o combate a fungos, sendo as bactérias isentas das rotas metabólicas onde o fungicida irá agir (MERJAN; ABBAS; HUSSEINI, 2019).

As vantagens da utilização de microrganismos na promoção do crescimento de plantas e como agentes do biocontrole estão diretamente relacionados a interação destes com a planta. Dessa forma, é imprescindível que se mantenham as propriedades biológicas dessas bactérias, estando elas viáveis no momento em que entrarem em contato com o vegetal. Essa variável é dependente de uma série de fatores, como a formulação dos químicos, o princípio ativo utilizado, do mecanismo de ação, da forma de aplicação e também das espécies bactérias empregadas (SANTOS et al., 2021). Sabe-se que os microrganismos quando em contato com compostos químicos são passíveis de sofrer mutações, além desses produtos terem a capacidade inibir ou induzir o crescimento de uma população microbiana específica. A pesquisa tem buscado avaliar a possibilidade de uso conjunto de bactérias e fungicidas, principalmente àqueles relacionados ao tratamento de sementes, uma vez que o uso dessas duas ferramentas em mistura no processo da semeadura é uma prática bastante recorrente. O contato de agrotóxicos com os microrganismos vai causar algum impacto no metabolismo destes, podendo prejudicar a sua sobrevivência e o estabelecimento de relações de simbiose com a planta.

A recomendação na utilização de misturas entre agrotóxicos e produtos biológicos está condicionada a uma série de fatores. Uma vez que a resposta metabólica da bactéria é bastante

variável, sendo influenciada por diversas variáveis tanto bióticas quanto abióticas. Desse modo, é imprescindível que se realizem mais testes em laboratórios, simulando as diferentes condições encontradas a campo, a fim de que as dinâmicas de interações entre bactérias e produtos químicos sejam melhores esclarecidas e testadas sob diferentes cenários.

6.3 TERCEIRO EXPERIMENTO: OPÇÕES DE MANEJO DE DOENÇAS EM SOJA UTILIZANDO CONTROLE QUÍMICO E BIOLÓGICO

Para o experimento de campo testando a bactéria *Bacillus subtilis* nenhuma variável apresentou médias significativamente diferentes em decorrência dos tratamentos testados (Tabela 8).

Tabela 8- Resumo da análise de variância para as seguintes variáveis: percentual de incidência de antracnose nos pecíolos (PD/PT, %), percentual de desfolha (NF/NTN), produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹) e massa de mil grãos (MMG, g).

FV	GL	PD/PT**	NF/NTN	PG	MMG*
Tratamento	7	0,885 (0,72) ^{ns}	266,7 (0,58) ^{ns}	115853 (0,11) ^{ns}	0,121 (0,09) ^{ns}
Bloco	3	3,83 (0,06) ^{ns}	239,4 (0,51) ^{ns}	434408 (0,00)*	0,06 (0,439) ^{ns}
Média geral		47,24	65,11	3267,88	164,16
CV (%)		7,8	12,37	7,53	1,91

* e ns, significativo a 5% e não significativo respectivamente, pelo teste F; FV: fonte de variação.

** Dados transformados usando raiz quadrada de Y

***Pecíolos com sintoma (PD); pecíolos totais (PT); número total de nós da planta (NTN); número de folhas (NF).

Fonte: Autor (2023)

Uma das doenças que desempenham importante papel na cultura da soja é a antracnose, tendo como agente causal o fungo *Colletotrichum truncatum*. Quando presente na lavoura, este patógeno pode levar a perdas no rendimento de grãos de até 90kg/ha⁻¹ para cada 1% de incremento na incidência, sendo a cultura da soja suscetível ao ataque deste patógeno durante todo o seu ciclo.(DIAS; PINHEIRO; CAFÉ-FILHO, 2016; GURJAR; BUNKER; SHARMA, 2021). As condições ótimas para o desenvolvimento deste fungo são temperaturas de 27,0 a 30,0 °C e elevadas precipitações (SILVA et al., 2021). Contudo, a safra 2022/23 foi caracterizada pelos baixos níveis pluviométricos, o que fez com que houvesse menor pressão de doenças, uma vez que o cenário climático não foi favorável ao desenvolvimento de patógenos.

Dessa forma, nas condições edafoclimáticas em que esse experimento foi exposto, a utilização de diferentes formas de manejo utilizando fungicidas químicos e o biofungicida a base de *B. subtilis* não apresentaram diferenças estatísticas para as variáveis testadas (Tabela 9).

Tabela 9- Percentual de incidência de antracnose nos pecíolos (PD/PT, %), percentual de desfolha (NF/NTN), produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹) e massa de mil grãos (MMG, g).

Tratamentos#	PD/PT	NF/NTN, %	PG, kg ha ⁻¹	MMG*
T1	50,90	69,45	3573,177	165,58
T2	50,58	66,71	3421,848	159,63
T3	47,46	69,41	3166,948	163,53
T4	47,37	61,34	3280,548	165,84
T5	47,20	66,70	3097,765	160,69
T6	46,62	63,20	3178,743	166,06
T7	45,67	64,75	3339,221	172,87
T8	42,19	59,37	3084,827	159,13

*Letras minúsculas distintas na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

**Pecíolos com sintoma (PD); pecíolos totais (PT); número total de nós da planta (NTN); número de folhas (NF). # tratamentos apresentados na tabela 4.

Fonte: Autor (2023)

A utilização de *Bacillus* spp. na agricultura é justificada devido a grande capacidade que esse gênero bacteriano tem de fornecer diferentes cepas que além de atuarem na promoção do crescimento de plantas, também são agentes de controle de pragas e doenças. Sua ação como biopesticida está relacionado tanto a mecanismos diretos, como a produção de compostos antimicrobianos, bem como de mecanismos indiretos, através da indução de respostas de defesa da planta. O potencial uso de *Bacillus subtilis* na inibição do crescimento de fungos patogênicos se dá pela aptidão que essa bactéria possui de sintetizar lipopeptídeos antifúngicos, como iturinas, plipastatinas e surfactinas, que ao interagirem com os fungos, criam canais transmembranares que irão acarretar em perda do conteúdo celular e posteriormente, na morte (DUNLAP; BOWMAN; ROONEY, 2019; SANSINENEA, 2019). Além disso, essas proteínas também atuam na indução de resistência sistêmica da planta, promovendo a síntese de ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno, da proteína NPR1, relacionada a defesa da planta, além de regular a produção de genes de defesa, tais como PR3, PR-4 e PR-12 (ALI et al., 2018). Ademais, a habilidade que esse gênero possui de formar estruturas de resistência, os endósporos, associado a combinação dos diferentes modos de ação que *Bacillus subtilis* possui no controle de patógenos, sendo eficaz contra uma diversa gama de doenças de soja, faz com que essa seja uma espécie bastante utilizada pela indústria do biocontrole (WANG et al., 2018)

Experimentos de campo testando a eficácia *Bacillus subtilis* no controle de doenças foliares evidenciaram a redução na severidade de ferrugem asiática (*Phakopsora pachirhizi*), míldio (*Peronospora manshurica*), mancha marrom (*Septoria glycines*), mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*) e mancha-parda (*Septoria glycines*) nas folhas e a antracnose (*Colletotrichum truncatum*) nas vagens quando esta bactéria foi aplicada isolada ou combinada a fungicidas sistêmicos (SANTOS et al., 2022). O manejo integrado de *B. subtilis* com fungicidas sistêmicos também resultou em redução da severidade de ferrugem asiática e gerou ganhos em produtividade na cultura da soja sob condições de baixa-média pressão da doenças (DORIGHELLO et al., 2020). No tremoço, a aplicação de *B. subtilis* cepa CTPXS2 causou inibição do crescimento de antracnose (*C. acutatum*) devido a produção de lipopeptídeos que causaram danos na membrana celular do patógeno, e a indução da expressão de genes de defesa da planta, relacionados a resistência adquirida sistêmica (YÁNEZ-MENDIZÁBAL; FALCONÍ, 2021). Em trigo, o controle da ferrugem amarela (*Puccinia striiformis*) por *B. subtilis* cepa QST-713 foi de cerca de 60% quando houve baixa pressão da doença, porém foi inferior a 30% no ano em que as condições edafoclimáticas foram favoráveis ao desenvolvimento do patógeno (REISS; JØRGENSEN, 2017).

O manejo integrado utilizando produtos químicos e biológicos também pode ser uma opção a fim de reduzir a possibilidade de resistência do patógeno ao princípio ativo utilizado. Estudos tem demonstrado um aumento da tolerância de *P. pachyrhizi* aos fungicidas disponíveis no mercado (GODOY et al., 2016), o que pode acabar selecionando populações mais tolerantes, acarretando em falhas no controle desse patógeno. O emprego de *B. subtilis* como fungicida traz a grande vantagem dos diferentes modos de ação que essa bactéria possui, atuando como um fungicida mutilissítio, ideal para o manejo da resistência (DORIGHELLO et al., 2020).

Nas condições testadas, a utilização de *B. subtilis* no controle da antracnose e na manutenção da produtividade da soja apresentou resultados estatisticamente iguais ao do tratamento utilizando somente o manejo químico. Tais dados, permitem considerar a possibilidade de utilização de *B. subtilis* em programas de manejo integrado de doenças para a cultura da soja. Contudo, é primordial que se faça um monitoramento constante das lavouras, bem como o acompanhamento das condições climáticas, afim de realizar o melhor posicionamento dos biofungicidas.

Para o experimento testando o manejo de doenças utilizando fungicidas químicos e bactéria *P. fluorescens* houveram diferenças significativas para as variáveis percentual de incidência de antracnose nos pecíolos (PD/PT, %), e produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹). Enquanto que as variáveis percentual de desfolha (NF/NN) e massa de mil grãos (MMG, g) não

apresentaram diferenças estatísticas com a variação dos manejos utilizados (Tabela 10).

Tabela 10- Resumo da análise de variância para as seguintes variáveis: percentual de incidência de antracnose nos pecíolos (PD/PT, %), percentual de desfolha (NF/NTN), produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹) e massa de mil grãos (MMG, g).

FV	GL	PD/PT	NF/NTN	PG	MMG
Tratamento	7	461,8 (0,00)*	116,03 (0,35) ^{ns}	164066 (0,00)*	117,807 (0,35) ^{ns}
Bloco	3	591,4 (0,00)*	213,41 (0,110) ^{ns}	98102 (0,07) ^{ns}	129,323 (0,30) ^{ns}
Média geral		48,56	64,72	2930,68	171,19
CV (%)		9,06	6,85	6,52	5,82

* e ns, significativo a 5% e não significativo respectivamente, pelo teste F; FV: fonte de variação.

**Pecíolos com sintoma (PD); pecíolos totais (PT); número total de nós da planta (NTN); número de folhas (NF).

Fonte: Autor (2023)

Neste estudo, os tratamentos: T1 (somente aplicação de *P.fluorescens*), T2 (Mistura de calda), T3 (aplicação de fungicida seguida por aplicação de *P.fluorescens*, com intervalo de 3 dias), T4 (somente aplicação de fungicida), T6 (duas primeiras aplicações de *P.fluorescens* e duas últimas de fungicida) e T8 (aplicações intercaladas de *P.fluorescens* e fungicida) apresentaram menores médias para a variável percentual de incidência de antracnose nos pecíolos. Sendo que neste caso as menores médias correspondem a uma menor presença de sintomas de *C. Truncatum*, como pode ser observado na Tabela 11. Os tratamentos T1 e T4, que correspondem ao manejo biológico e manejo químico apresentaram uma redução de respectivamente 8,63 e 10,99% na incidência de antracnose de em relação a média geral dessa variável. Já para a produtividade de grãos as maiores médias foram encontradas nos tratamentos T1 (somente aplicação de *P. fluorescens*), T3 (aplicação de fungicida seguida por aplicação de *P.fluorescens*, com intervalo de 3 dias), T4 (somente aplicação de fungicida), T7 (três primeiras aplicações de *P.fluorescens* e a quarta de fungicida) e T8 (aplicações intercaladas de *P.fluorescens* e fungicida). Percebe-se então, que o uso isolado de *P.fluorescens* (T1) e o uso de somente aplicações de fungicidas químicos (T4) apresentaram efeitos positivos na produtividade. O tratamento 1, que corresponde ao manejo biológico apresentou um incremento de produtividade de 4,96% em relação média do experimento para essa variável, sendo este valor correspondente a 2,42 sacas/hectare. Do contrário, a utilização de mistura entre químico e biológico não surtiu efeito nessa importante variável. Além disso, as aplicações sequenciais de bactéria e fungicida expressas pelos tratamentos T3, T7 e T8 apesar de terem sido significativas para a produtividade de grãos, não diferiram estatisticamente do uso isolado de

P. fluorescens ou de fungicidas. Dessa forma é possível inferir que nas condições testadas, o manejo biológico de soja no controle de doenças utilizando utilização *P. fluorescens* foi eficiente, garantindo produtividade final estatisticamente igual ao manejo químico de doenças.

Tabela 11- - Percentual de incidência de antracnose nos pecíolos (PD/PT, %), percentual de desfolha (NF/NTN), produtividade de grãos (PG, kg ha-1) e massa de mil grãos (MMG, g).

	PD/PT	NF/NTN	PG	MMG
T1	44,70 c	60,81	3076,28 a	167,03
T2	45,07 c	64,51	2745,87 b	174,05
T3	47,38 c	66,58	3109,91 a	162,97
T4	43,75 c	66,40	2932,87 a	172,42
T5	56,66 a	65,12	2563,16 b	165,24
T6	46,03 c	61,53	2849,95 b	178,29
T7	50,54 b	65,75	3158,61 a	174,60
T8	54,40 a	67,11	3008,75 a	174,96

*Letras minúsculas distintas na coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro

**Pecíolos com sintoma (PD); pecíolos totais (PT); número total de nós da planta (NTN); número de folhas (NF). # tratamentos apresentados na tabela 4

Fonte: Autor (2023)

Dentre as atividades microbianas exercidas por *Pseudomonas* spp. que fazem essa bactéria ser classificada como um agente de biocontrole estão a presença de genes que irão codificar a produção de metabólitos secundários com atividade antibacteriana, tais como 2,4-diacetilfloroglucinol, pioverdinas, fenazinas, cianeto de hidrogênio e compostos orgânico voláteis (DUTTA et al., 2019; ZHANG et al., 2021). Um exemplo disso é a bactéria *P. fluorescens* cepa PF-5 que acredita-se que tenha de 5,7% do seu genoma voltado para a síntese de metabólitos secundários (PAULSEN et al., 2005). Outro importante mecanismo de ação na supressão de doenças é a síntese de enzimas, tais como as quitinases, glucanases e proteases, que atuam na parede celular dos fungos, liberando compostos essenciais para a sobrevivência destes (DIMKIĆ et al., 2022). Além disso, *P. fluorescens* realiza a secreção de sideróforos que são quelantes de ferro, importantes no biocontrole uma vez que sequestram esse mineral do ambiente, impedindo a sua utilização pelo patógeno. Na cultura do amendoim a produção do sideróforo do tipo hidroximato pela bactéria resultou em elevada eficiência no controle da podridão do carvão causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* (GUPTA; DUBEY; MAHESHWARI, 2002). Outros estudos também já evidenciaram a ação de *Pseudomonas* spp. no controle de fungos de solo, uma vez que essa bactéria apresenta uma colonização agressiva do sistema radicular, sendo eficiente no controle biológico de patógenos causadores de doenças de solo, como de *Rhizoctonia solani* na batata (FATHI; SABERI-RISEH; KHODAYGAN,

2021). Contudo, ainda são poucas as informações a respeito da utilização foliar de *P.fluorescens* no controle de doenças, apesar de que já se comprovou o potencial antimicrobiano desse gênero. Sendo este possivelmente relacionado a produção do metabólito bacteriano fenazina, que possui sólida atividade antifúngica, chegando a inibir em até 50% o crescimento micelial de *C. truncatum*, fungo causador da antracnose em soja (CASTALDI et al., 2021). Kakembo & Lee, (2019) demonstraram a eficácia de *P. parafulva* JBCS1880 na supressão de pústula bacteriana em folhas de soja, chegando a uma eficácia de controle de 88,9%. A antracnose é uma das doenças de maior importância para a cultura da soja, sendo causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*. Seu aparecimento se dá mais comumente no final do ciclo da cultura e sob condições favoráveis de elevada temperatura e umidade pode acarretar em perdas substanciais na produtividade ao afetar o desenvolvimento das vagens, causando queda e/ou apodrecimento das mesmas (DIAS et al., 2019). A utilização de *P. fluorescens* em programas de manejo de doenças em soja é uma opção que pode ser considerada para o controle dessa doença. Uma vez que a aplicação foliar dessa bactéria resultou em redução na incidência de antracnose (*Colletotrichum truncatum*), bem como conseguiu assegurar produtividade semelhante àquela encontrada no tratamento onde somente foi utilizado o controle químico.

7 CONCLUSÕES

Nas condições de intenso estresse hídrico e térmico enfrentadas durante as duas safras, a utilização de microrganismos em sulco de semeadura não promoveu incrementos na produtividade de grãos de soja. Contudo, para a primeira safra (2021/22) o emprego de microrganismos, com exceção para o tratamento 4 (Ab+ Bj+Ta+Pf), resultou em maiores médias para a variável comprimento radicular em relação à testemunha não inoculada. A mistura dos quatro microrganismos, expressa pelo T4, também gerou menores médias para a variável volume radicular, sendo estas 32% inferiores à média geral para esta variável.

A sobrevivência das bactérias *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis* foi variável conforme os produtos formulados a partir dos ingredientes ativos utilizados. Sendo que para *P. fluorescens* houve redução na sobrevivência da bactéria mediante contato com todos os fungicidas testados. Para *B. subtilis* houve redução na sobrevivência para os princípios ativos mancozebe, difenoconazol, picoxistrobina + benzovindiflupir e impirfluxam + tebuconazol. Contudo, na mistura com o produto formulado a partir do ingrediente ativo carbendazim, houve um aumento de 105% no número de colônias de *B. subtilis* em relação à

testemunha.

Perante as condições edafoclimáticas a qual o experimento foi submetido, a utilização do manejo biológico representado pelas bactérias *P. fluorescens* e *B. subtilis* foi estatisticamente igual ao manejo químico no que diz respeito ao controle da antracnose e a manutenção da produtividade da soja. Sendo que essas bactérias podem vir a ser consideradas uma opção no manejo de doenças foliares em soja.

REFERÊNCIAS

ABBEY, J. A. et al. Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*) – prospects and challenges. **Biocontrol Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 207–228, 2019.

ABDOLLAHDOKHT, D. et al. Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: an overview on recent advances. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2022.

ABDUL RAHMAN, N. S. N.; ABDUL HAMID, N. W.; NADARAJAH, K. Effects of Abiotic Stress on Soil Microbiome. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 9036, 2021.

AHLUWALIA, O.; SINGH, P. C.; BHATIA, R. A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. **Resources, Environment and Sustainability**, v. 5, p. 100032, 2021.

ALEXANDER, M. **Biodegradation and Bioremediation**. 2. ed. Ithaca, New York- USA: Gulf Professional Publishing, 1999. v. 2

ALI, S. et al. Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. **Microbiological Research**, v. 212–213, p. 29–37, 2018.

ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

ANPII. **Como o Brasil se tornou líder mundial no uso de inoculantes**. Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes, 2017. Disponível em: <<http://www.anpii.org.br/como-o-brasil-se-tornou-lider-mundial-no-uso-de-inoculantes/>>. Acesso em: 23 nov. 2022

AYOUBI, N.; ZAFARI, D.; MIRABOLFATHY, M. Combination of *Trichoderma* species and *Bradyrhizobium japonicum* in control of *Phytophthora sojae* and soybean growth. **Journal of Crop Protection**, v. 1, n. 1, 2012.

- BAHADIR, P. S.; LIAQAT, F.; ELTEM, R. Plant growth promoting properties of phosphate solubilizing *Bacillus* species isolated from the Aegean Region of Turkey. **Turkish Journal of Botany**, v. 42, n. 2, p. 183–196, 2018.
- BAKHSHANDEH, E. et al. Effects of plant growth promoting microorganisms inoculums on mineral nutrition, growth and productivity of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Nutrition**, v. 43, n. 11, p. 1643–1660, 2 jul. 2020.
- BARBOSA, J. Z. et al. Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* spp. in Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 163, p. 103913, 2021.
- BASHAN, Y. et al. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil**, v. 378, n. 1, p. 1–33, 2014.
- BENGOUGH, A. G. et al. Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 2, p. 437–447, 2006.
- BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. J.; BAKKER, P. A. H. M. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 8, p. 478–486, 2012.
- BIN, L.; KNUDSEN, G.; ESCHEN, D. J. Influence of an Antagonistic Strain of *Pseudomonas fluorescens* on Growth and Ability of *Trichoderma harzianum* to Colonize Sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in Soil. **Phytopathology**, v. 81, n. 9, p. 994, 1991.
- BORGES CHAGAS, L. F. et al. Evaluation of the phosphate solubilization potential of *Trichoderma* strains (*Trichoplus* JCO) and effects on rice biomass. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 15, n. 3, p. 794–804, 2015.
- BORRERO DE ACUÑA, J. M.; BERNAL, P. Plant holobiont interactions mediated by the type VI secretion system and the membrane vesicles: promising tools for a greener agriculture. **Environmental Microbiology**, v. 23, n. 4, p. 1830–1836, 2021.
- BRACCINI, A. L. et al. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, p. 27–35, 2016.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, v. 383, n. 1, p. 3–41, 2014.
- CANFORA, L. et al. Trends in Soil Microbial Inoculants Research: A Science Mapping Approach to Unravel Strengths and Weaknesses of Their Application. **Agriculture**, v. 11, n. 2, p. 158, 2021.
- CANNELL, M. G.; DEWAR, R. C. Carbon allocation in trees, a review of concepts for modeling. **Advances in Ecological Research**, n. 25, p. 59–104, 1994.
- CARDOZO, P. et al. Improvement of Maize Yield by Foliar Application of *Azospirillum brasilense* Az39. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 41, n. 3, p. 1032–1040, 2022.
- CASSÁN, F. et al. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture

and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, n. 4, p. 461–479, 2020.

CASSÁN, F.; VANDERLEYDEN, J.; SPAEPEN, S. Physiological and Agronomical Aspects of Phytohormone Production by Model Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Belonging to the Genus *Azospirillum*. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 33, n. 2, p. 440–459, 2014.

CASSMAN, K. G.; GRASSINI, P. A global perspective on sustainable intensification research. **Nature Sustainability**, v. 3, n. 4, p. 262–268, 2020.

CASTALDI, S. et al. *Pseudomonas fluorescens* Showing Antifungal Activity against *Macrophomina phaseolina*, a Severe Pathogenic Fungus of Soybean, Produces Phenazine as the Main Active Metabolite. **Biomolecules**, v. 11, n. 11, p. 1728, 2021.

CASTRO, S. et al. Interaction of the fungicide mancozeb and *Rhizobium* sp. in pure culture and under field conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v. 25, n. 2, p. 147–151, 1997.

CEREZINI, P. et al. Strategies to promote early nodulation in soybean under drought. **Field Crops Research**, v. 196, p. 160–167, 2016.

CHAGAS, L. F. B. et al. *Trichoderma asperellum* efficiency in soybean yield components. **Comunicata Scientiae**, v. 8, n. 1, p. 165–169, 2017.

CIAMPITTI, I. A.; SALVAGIOTTI, F. New Insights into Soybean Biological Nitrogen Fixation. **Agronomy Journal**, v. 110, n. 4, p. 1185–1196, 2018.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos- 2021/2022**: v. 9. Brasília, DF: Companhia Nacional do Abastecimento, 2022.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos - 2022/2023**: v.10. Brasília, DF: Companhia Nacional do Abastecimento, 2023.

CONSOLO, V. F. et al. Characterization of novel *Trichoderma* spp. isolates as a search for effective biocontrollers of fungal diseases of economically important crops in Argentina. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1389–1398, 2012.

CUI, L. et al. Potential of an endophytic bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* 3–5 as biocontrol agent against potato scab. **Microbial Pathogenesis**, v. 163, p. 105382, 2022.

DAVID, B. V.; CHANDRASEHAR, G.; SELVAM, P. N. Chapter 10 - *Pseudomonas fluorescens*: A Plant-Growth-Promoting Rhizobacterium (PGPR) With Potential Role in Biocontrol of Pests of Crops. Em: PRASAD, R.; GILL, S. S.; TUTEJA, N. (Eds.). **Crop Improvement Through Microbial Biotechnology**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 221–243.

DIAS, M. D. et al. Current Status of Soybean Anthracnose Associated with *Colletotrichum truncatum* in Brazil and Argentina. **Plants**, v. 8, n. 11, p. 459, 2019.

DIAS, M. D.; PINHEIRO, V. F.; CAFÉ-FILHO, A. C. Impact of anthracnose on the yield of soybean subjected to chemical control in the north region of Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 42, p. 18–23, 2016.

DIMKÍĆ, I. et al. Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant

disease suppression via biological control mechanisms - A review. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 117, p. 101754, 2022.

DINH, T. L. et al. Influence of Divalent Metal Ions on Biofilm Formation by *Bacillus subtilis*. **BioNanoScience**, v. 9, n. 2, p. 521–527, 2019.

DOBEREINER, J.; MARRIEL, I. E.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, n. 10, p. 1464–1473, 1976.

DORIGHELLO, D. V. et al. Management of Asian soybean rust with *Bacillus subtilis* in sequential and alternating fungicide applications. **Australasian Plant Pathology**, v. 49, n. 1, p. 79–86, 2020.

DORJEY, S.; DOLKAR, D.; SHARMA, R. Plant Growth Promoting Rhizobacteria *Pseudomonas*: A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 7, p. 1335–1344, 2017.

DUNLAP, C. A.; BOWMAN, M. J.; ROONEY, A. P. Iturinic Lipopeptide Diversity in the *Bacillus subtilis* Species Group – Important Antifungals for Plant Disease Biocontrol Applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019.

DUTTA, S. et al. Complete genome sequencing of *Pseudomonas fluorescens* NBC275, a biocontrol agent against fungal pathogens of plants and insects. **The Microbiological Society of Korea**, v. 55, n. 2, p. 157–159, 2019.

ECMWF. Text. Disponível em: <<https://www.ecmwf.int/>>. Acesso em: 15 ago. 2023.

FABRA, A. et al. Biochemical alterations in *Bradyrhizobium* sp USDA 3187 induced by the fungicide Mancozeb. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 73, n. 3, p. 223–228, 1998.

FATHI, F.; SABERI-RISEH, R.; KHODAYGAN, P. Survivability and controlled release of alginate-microencapsulated *Pseudomonas fluorescens* VUPF506 and their effects on biocontrol of *Rhizoctonia solani* on potato. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 627–634, 2021.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of soybean development. **Ames: Iowa State University of Science and Technology**, v. 80, p. 15, 1977.

FERNANDEZ, D.; TORASSA, M.; PÉREZ, M. A. Evaluación de la compatibilidad in vitro de microorganismos (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma atroviride*) con fungicidas comerciales, para la producción sustentable de maní. **South American Sciences**, v. 2, 2021.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. Pesticides indicators. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/EP>>. Acesso em: 27 jun. 2023.

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, 2015.

GIEHL, R. F. H.; GRUBER, B. D.; VON WIRÉN, N. It's time to make changes: modulation of root system architecture by nutrient signals. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 3,

p. 769–778, 2014.

GODOY, C. V. et al. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 407–421, 2016.

GOLDSMITH, P. D. Soybean Production and Processing in Brazil. Em: JOHNSON, L. A.; WHITE, P. J.; GALLOWAY, R. (Eds.). **Soybeans**. [s.l.] AOCS Press, 2008. p. 773–798.

GOUDA, S. et al. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, v. 206, p. 131–140, 2018.

GUPTA, C.; DUBEY, R.; MAHESHWARI, D. Plant growth enhancement and suppression of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of peanut by fluorescent *Pseudomonas*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, n. 6, p. 399–405, 2002.

GURJAR, A. K.; BUNKER, R.; SHARMA, A. K. Efficacy of fungicides, botanicals and organic amendments to suppress the anthracnose of soybean caused by *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus and Moore. **The Pharma Innovation Journal**, v. 10, n. 9, p. 1633–1638, 2021.

GÜZELER, N.; YILDIRIM ÖZBEK, Ç. The Utilization and Processing of Soybean and Soybean Products. **Journal of Agricultural Faculty of Uludağ University**, v. 30, p. 546–553, 2016.

HASSAN, S. E.-D. Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of *Teucrium polium* L. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n. 6, p. 687–695, 2017.

HAWKINS, N. J. et al. The evolutionary origins of pesticide resistance. **Biological Reviews**, v. 94, n. 1, p. 135–155, 2019.

HERMOSA, R. et al. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17–25, 2012.

HÖFTE, M.; ALTIER, N. Fluorescent pseudomonads as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. **Research in Microbiology**, v. 161, n. 6, p. 464–471, 2010.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja**, v. 325, n. 21, p. 36, 2011.

HUNGRIA, M. et al. Inoculum Rate Effects on the Soybean Symbiosis in New or Old Fields under Tropical Conditions. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 3, p. 1106–1112, 2017.

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**, n. 1, p. 80, 2007.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. Nitrogen Fixation with Soybean: The Perfect Symbiosis? Em: **Biological Nitrogen Fixation**. [s.l.: s.n.]. v. 2p. 1009–1024.

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, n. 7, p. 791–801, 2013.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean Seed Co-Inoculation with Bradyrhizobium spp. and Azospirillum brasilense: A New Biotechnological Tool to Improve Yield and Sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 6, p. 811–817, 2015.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2, p. 151–164, 2000.

HUSSAIN, H. A. et al. Interactive effects of drought and heat stresses on morpho-physiological attributes, yield, nutrient uptake and oxidative status in maize hybrids. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 3890, 2019.

IANNETTA, P. P. M. et al. A Comparative Nitrogen Balance and Productivity Analysis of Legume and Non-legume Supported Cropping Systems: The Potential Role of Biological Nitrogen Fixation. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.

INMET. **SISDAGRO**. Disponível em: <<http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/monitoramento/bhs>>. Acesso em: 27 jun. 2023.

JABBOROVA, D. et al. Co-inoculation of rhizobacteria promotes growth, yield, and nutrient contents in soybean and improves soil enzymes and nutrients under drought conditions. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 22081, 2021.

KAKEMBO, D.; LEE, Y. H. Analysis of traits for biocontrol performance of *Pseudomonas parafulva* JBCS1880 against bacterial pustule in soybean plants. **Biological Control**, v. 134, p. 72–81, 2019.

KANG, S.-M. et al. Integrated phytohormone production by the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus tequilensis* SSB07 induced thermotolerance in soybean. **Journal of Plant Interactions**, v. 14, n. 1, p. 416–423, 2019.

KASPER, S. et al. Abiotic and Biotic Limitations to Nodulation by Leguminous Cover Crops in South Texas. **Agriculture**, v. 9, n. 10, p. 209, 2019.

KAUL, S. et al. Engineering Host Microbiome for Crop Improvement and Sustainable Agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

KOPITTKE, P. M. et al. Soil and the intensification of agriculture for global food security. **Environment International**, v. 132, p. 105078, 2019.

KOSOVÁ, K. et al. Complex phytohormone responses during the cold acclimation of two wheat cultivars differing in cold tolerance, winter Samanta and spring Sandra. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 6, p. 567–576, 2012.

KUMAR, J. et al. An Overview of Some Biopesticides and Their Importance in Plant Protection for Commercial Acceptance. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1185, 2021.

KUMAR, M. et al. Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant Signaling & Behavior**, v. 11, n. 1, p. e1071004, 2016.

- KUMAR, S.; SINGH, A. Biopesticides: Present Status and the Future Prospects. **Journal of Fertilizers and Pesticides**, v. 6, p. 129, 2015.
- LEGGETT, M. et al. Soybean Response to Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* in the United States and Argentina. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 3, p. 1031–1038, 2017.
- LU, T. et al. Rhizosphere microorganisms can influence the timing of plant flowering. **Microbiome**, v. 6, n. 1, p. 231, 2018.
- MACHADO, D. F. M. et al. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274–288, 2012.
- MAHANTY, T. et al. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 4, p. 3315–3335, 2017.
- MARTÍNEZ, B.; INFANTE, D.; REYES, Y. Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. v. 28, n. 1, 2013.
- MAURICIO, J. F.; SILVA, C. H. S.; SOUZA, J. E. B. DE. Desempenho Agronômico e Produtivo da Cultura da Soja com a Co-Inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* brasilense. **Ipê Agronomic Journal**, v. 2, n. 2, p. 46–57, 2018.
- MEDEOT, D. B. et al. Fengycins From *Bacillus amyloliquefaciens* MEP218 Exhibit Antibacterial Activity by Producing Alterations on the Cell Surface of the Pathogens *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* and *Pseudomonas aeruginosa* PA01. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2020.
- MERJAN, A. F.; ABBAS, B. M.; HUSSEINI, A. Y. A. *Pseudomonas* fluorescence Bio - compatibility with chemical fungicide Carboxin 75 and Raxil 2DS to control corn seedling blight causing by *Fusarium graminearum*, *F. moniliforme* and *F. poliferatum*. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1294, n. 9, p. 092002, 2019.
- MERTZ-HENNING, L. M. et al. Effect of Water Deficit-Induced at Vegetative and Reproductive Stages on Protein and Oil Content in Soybean Grains. **Agronomy**, v. 8, n. 1, p. 3, 2018.
- METCALFE, D. B. et al. The effects of water availability on root growth and morphology in an Amazon rainforest. **Plant and Soil**, v. 311, n. 1, p. 189–199, 2008.
- MIFTAKHURROHMAT, A.; SUTARMAN. The Vegetative Growth Response of Detam Soybean Varieties towards *Bacillus subtilis* and *Trichoderma* sp. Applications as Bio-fertilizer. **E3S Web of Conferences**, v. 232, p. 03024, 2021.
- MISHRA, J.; DUTTA, V.; ARORA, N. K. Biopesticides in India: technology and sustainability linkages. **3 Biotech**, v. 10, n. 5, p. 210, 2020.
- MNIF, I.; GHRIBI, D. Potential of bacterial derived biopesticides in pest management. **Crop Protection**, v. 77, p. 52–64, 2015.
- MOHSIN, M. Z. et al. Advances in engineered *Bacillus subtilis* biofilms and spores, and their applications in bioremediation, biocatalysis, and biomaterials. **Synthetic and Systems**

Biotechnology, v. 6, n. 3, p. 180–191, 1 set. 2021.

MOLINA-FAVERO, C. et al. Aerobic Nitric Oxide Production by *Azospirillum brasilense* Sp245 and Its Influence on Root Architecture in Tomato. **Molecular Plant-Microbe Interactions®**, v. 21, n. 7, p. 1001–1009, 2008.

MONJARÁS FERIA, J.; VALVANO, M. A. An Overview of Anti-Eukaryotic T6SS Effectors. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, 2020.

MORALES-GARCÍA, Y. E. et al. Bacterial Mixtures, the Future Generation of Inoculants for Sustainable Crop Production. Em: MAHESHWARI, D. K.; DHEEMAN, S. (Eds.). **Field Crops: Sustainable Management by PGPR**. Sustainable Development and Biodiversity. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 11–44.

MORETTI, L. G. et al. Bacterial Consortium and Microbial Metabolites Increase Grain Quality and Soybean Yield. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 4, p. 1923–1934, 2020.

NAHRAWY, S. E.-; ELBAGORY, M.; OMARA, A. E.-D. Biocompatibility Effect of *Bradyrhizobium japonicum* and *Trichoderma* Strains on Growth, Nodulation and Physiological Traits of Soybean (*Glycine max* L.) under Water Deficit Conditions. **Journal of Advances in Microbiology**, p. 52–66, 2020.

NASCIMENTO, V. C. J. DO; PRETE, C. E. C.; NOGUEIRA, M. A. Biological nitrogen fixation in soybean under water restriction and exposed to 1-methylcyclopropene. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 818–823, 2016.

NGUMBI, E.; KLOEPPER, J. Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 109–125, 2016.

OLANREWaju, O. S.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 11, p. 197, 2017.

PATRIGNANI, A.; OCHSNER, T. E. Canopeo: A Powerful New Tool for Measuring Fractional Green Canopy Cover. **Agronomy Journal**, v. 107, n. 6, p. 2312–2320, 2015.

PAULSEN, I. T. et al. Complete genome sequence of the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. **Nature Biotechnology**, v. 23, n. 7, p. 873–878, 2005.

PEIRETTI, P. G. et al. Phenolic Composition and Antioxidant Activities of Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Plant during Growth Cycle. **Agronomy**, v. 9, n. 3, p. 153, 2019.

PESQUEIRA, A. DA S.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Fungicide association in the control of anthracnose in the soybean in Mato Grosso do Sul. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, 2016.

PINTO, D. B. B. et al. Recovery of *Bradyrhizobium* cells and effects on the physiological quality of soybean seeds sown in dry soil. **Journal of Seed Science**, v. 45, 2023.

POVEDA, J. *Trichoderma parareesei* Favors the Tolerance of Rapeseed (*Brassica napus* L.) to Salinity and Drought Due to a Chorismate Mutase. **Agronomy**, v. 10, n. 1, p. 118, 2020.

POVEDA, J.; EUGUI, D. Combined use of Trichoderma and beneficial bacteria (mainly Bacillus and Pseudomonas): Development of microbial synergistic bio-inoculants in sustainable agriculture. **Biological Control**, v. 176, p. 105100, 2022.

R CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria, 2020. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>

RAHMAN, M.; BORAH, P.; BORA, L. Evaluation of Pseudomonas fluorescence based Commercial Biopesticide Products against their Indicated Phytopathogens. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 9, 2020.

RAMESH, A. et al. Plant Growth-Promoting Traits in Enterobacter cloacae subsp. dissolvens MDSR9 Isolated from Soybean Rhizosphere and its Impact on Growth and Nutrition of Soybean and Wheat Upon Inoculation. **Agricultural Research**, v. 3, n. 1, p. 53–66, 2014.

RATH, M.; MITCHELL, T. R.; GOLD, S. E. Volatiles produced by Bacillus mojavensis RRC101 act as plant growth modulators and are strongly culture-dependent. **Microbiological Research**, v. 208, p. 76–84, 2018.

REISS, A.; JØRGENSEN, L. N. Biological control of yellow rust of wheat (Puccinia striiformis) with Serenade®ASO (Bacillus subtilis strain QST713). **Crop Protection**, v. 93, p. 1–8, 2017.

RODRIGUES, T. F. et al. Impact of pesticides in properties of Bradyrhizobium spp. and in the symbiotic performance with soybean. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 11, p. 172, 2020.

RONDINA, A. B. L. et al. Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with Bradyrhizobium spp. and Azospirillum brasilense or treated with A. brasilense exudates. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, n. 4, p. 537–549, 2020.

ROPELEWSKI, C. F.; HALPERT, M. S. Precipitation Patterns Associated with the High Index Phase of the Southern Oscillation. **Journal of Climate**, v. 2, p. 268–284, 1989.

RUBIN, R. L.; VAN GROENIGEN, K. J.; HUNGATE, B. A. Plant growth promoting rhizobacteria are more effective under drought: a meta-analysis. **Plant and Soil**, v. 416, n. 1, p. 309–323, 2017.

SAGAR, A. et al. Bacillus subtilis: A Multifarious Plant Growth Promoter, Biocontrol Agent, and Bioalleviator of Abiotic Stress. Em: ISLAM, M. T.; RAHMAN, M.; PANDEY, P. (Eds.). **Bacilli in Agrobiotechnology: Plant Stress Tolerance, Bioremediation, and Bioprospecting**. Bacilli in Climate Resilient Agriculture and Bioprospecting. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 561–580.

SANSINENEA, E. Applications and Patents of Bacillus spp. in Agriculture. Em: SINGH, H. B.; KESWANI, C.; SINGH, S. P. (Eds.). **Intellectual Property Issues in Microbiology**. Singapore: Springer, 2019. p. 133–146.

SANTOS, F. M. et al. Integrating a Bacillus-based product with fungicides by foliar application to protect soybean: a sustainable approach to avoid exclusive use of chemicals. **Pest Management Science**, v. 78, n. 11, p. 4832–4840, 2022.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília, DF: Embrapa Solos, 2018.

SANTOS, M. S. et al. The Challenge of Combining High Yields with Environmentally Friendly Bioproducts: A Review on the Compatibility of Pesticides with Microbial Inoculants. **Agronomy**, v. 11, n. 5, p. 870, 2021.

SCHWEMBER, A. R. et al. Regulation of Symbiotic Nitrogen Fixation in Legume Root Nodules. **Plants**, v. 8, n. 9, p. 333, 2019.

SCUDELETTI, D. et al. Inoculation with *Azospirillum brasilense* as a strategy to enhance sugarcane biomass production and bioenergy potential. **European Journal of Agronomy**, v. 144, p. 126749, 2023.

SEIXAS, C. D. S. et al. Tecnologias de produção de soja. p. 348, 2020.

SHARMA, N.; SINGHVI, R. Effects of Chemical Fertilizers and Pesticides on Human Health and Environment: A Review. **International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology**, v. 10, n. 6, p. 675, 2017.

SHIRZAD, A. et al. Analysis of cross-talk between *Trichoderma atroviride* and *Pseudomonas fluorescens*. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, p. 621–628, 2012.

SILVA, A. J. D.; CANTERI, M. G.; SILVA, A. L. D. Haste verde e retenção foliar na cultura da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 3, p. 151–156, 2013.

SILVA, C. M. M. DE S. et al. Isolamento de fungos degradadores de carbendazim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1255–1264, 1999.

SILVA, E. R. et al. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? **Archives of Microbiology**, v. 201, n. 3, p. 325–335, 2019.

SILVA, M. B. DA J. et al. Effect of temperature on *Colletotrichum truncatum* growth, and evaluation of its inoculum potential in soybean seed germination. **European Journal of Plant Pathology**, v. 160, n. 4, p. 999–1004, 2021.

SOHN, S.-I. et al. Dynamics of Bacterial Community Structure in the Rhizosphere and Root Nodule of Soybean: Impacts of Growth Stages and Varieties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 5577, 2021.

SONG, S.; HWANG, C.-W. **Microbial Degradation of Benzimidazole Fungicide Carbendazim by *Bacillus velezensis* HY-3479**. , 2023. Disponível em: <<https://www.researchsquare.com>>. Acesso em: 29 ago. 2023

SORDI, A. et al. Eficiência agronômica da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) submetida a coinoculação. **Scientia agraria**, v. 18, n. 4, p. 72–79, 2017.

SOUZA, R. DE; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, v. 38, p. 401–419, 2015.

SPOLAOR, L. T. et al. Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization

at topdressing in popcorn agronomic performance. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 33–40, 2016.

SUNEETA, P. et al. Study of Antimicrobial Compounds of *Bacillus subtilis* (PSB5) and its Interaction with Fungicides against *Fusarium oxysporum* f. sp. *gerberae*. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 9, n. 42, 2016.

SWARUP, R. C.; JOHNS, S. M.; PANDEY, S. A convenient, soil-free method for the production of root nodules in soybean to study the effects of exogenous additives. **Plant Direct**, v. 3, n. 4, 2019.

TIAN, B. et al. Beneficial traits of bacterial endophytes belonging to the core communities of the tomato root microbiome. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 247, p. 149–156, 2017.

TRABELSI, D.; MHAMDI, R. Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: a review. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 863240, 2013.

VAN DIJK, M. et al. A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. **Nature Food**, v. 2, n. 7, p. 494–501, 2021.

VANLAUWE, B. et al. The role of legumes in the sustainable intensification of African smallholder agriculture: Lessons learnt and challenges for the future. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 284, p. 106583, 2019.

VIEIRA, R. F. et al. Symbiotic Nitrogen Fixation in Tropical Food Grain Legumes: Current Status. Em: KHAN, M. S.; MUSARRAT, J.; ZAIDI, A. (Eds.). **Microbes for Legume Improvement**. Vienna: Springer, 2010. p. 427–472.

VURUKONDA, S. S. K. P. et al. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

WAHYUDI, A. T. Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting Rhizobacteria. p. 7, [s.d.].

WANG, X. Q. et al. Application and Mechanisms of *Bacillus subtilis* in Biological Control of Plant Disease. Em: MEENA, V. S. (Ed.). **Role of Rhizospheric Microbes in Soil: Volume 1: Stress Management and Agricultural Sustainability**. Singapore: Springer, 2018. p. 225–250.

WELLER, D. M. *Pseudomonas* Biocontrol Agents of Soilborne Pathogens: Looking Back Over 30 Years. **Phytopathology**®, v. 97, n. 2, p. 250–256, 2007.

XIANG, N.; LAWRENCE, K. S.; DONALD, P. A. Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 7–8, p. 449–458, 2018.

YADAV, A.; YADAV, K.; VASHISTHA, A. Phosphate solubilizing activity of *Pseudomonas fluorescens* PSM1 isolated from wheat rhizosphere. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 8, n. 1, p. 93–96, 2016.

YAISH, M. W.; ANTONY, I.; GLICK, B. R. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting bacteria from date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.) and their potential role in salinity tolerance. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 107, n. 6, p. 1519–1532, 1 jun. 2015.

YÁNEZ-MENDIZÁBAL, V.; FALCONÍ, C. E. *Bacillus subtilis* CtpxS2-1 induces systemic resistance against anthracnose in Andean lupin by lipopeptide production. **Biotechnology Letters**, v. 43, n. 3, p. 719–728, 2021.

ZEFFA, D. M. et al. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on co-inoculation with *Bradyrhizobium* in soybean crop: a meta-analysis of studies from 1987 to 2018. **PeerJ**, v. 8, p. e7905, 2020.

ZHANG, Y. et al. Antifungal effect of volatile organic compounds produced by *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens* SPS-41 on oxidative stress and mitochondrial dysfunction of *Ceratocystis fimbriata*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 173, p. 104777, 2021.

ZHAO, L. et al. Identification and characterization of the endophytic plant growth promoter *Bacillus Cereus* strain mq23 isolated from *Sophora Alopecuroides* root nodules. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 567–575, 2011.

ZHICHKINA, L. et al. Pesticide monitoring of agricultural soil pollution. **E3S Web of Conferences**, v. 193, p. 01068, 2020.