



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
CAMPUS LUIZ MENEGHEL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM AGRONOMIA

JORGE RODRIGO ARNDT

**SELEÇÃO DE POTENCIAIS BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE
PLANTAS DE SOJA**

BANDEIRANTES, PR, BRASIL

2019

JORGE RODRIGO ARNDT

**SELEÇÃO DE POTENCIAIS BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE
PLANTAS DE SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Agronomia, da Universidade
Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz
Meneghel.

Orientador: Prof. Dr. Leopoldo Sussumu
Matsumoto

BANDEIRANTES, PR, BRASIL

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UENP

AA747s Arndt, Jorge Rodrigo
Seleção de potenciais bactérias promotoras de
crescimento de plantas de soja / Jorge Rodrigo
Arndt; orientador Leopoldo Sussumu Matsumoto -
Bandeirantes, 2019.
72 p.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade
Estadual do Norte do Paraná, Centro de Ciências
Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2019.

1. . I. Matsumoto, Leopoldo Sussumu, orient. II.
Título.

JORGE RODRIGO ARNDT

**SELEÇÃO DE POTENCIAIS BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE
PLANTAS DE SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Agronomia, da Universidade
Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz
Meneghel.

Aprovada em: 31/07/2019

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto	UENP
--------------------------------------	------

Profa. Dra. Adriana Pereira da Silva	UEL
--------------------------------------	-----

Prof. Dr. Luis Eduardo Azevedo Marques Lescano	UENP
--	------

SUPLENTE

Profa. Dra. Luciana Grange	UFPR
----------------------------	------

Prof. Dr. Francisco Carlos Mainardes da Silva	UENP
---	------

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto
Orientador
Universidade Estadual do Norte do Paraná,
Campus Luiz Meneghel

DEDICATÓRIA

À Deus pelo dom da vida, à meus pais por todo apoio e amor incondicional, aos meus amigos e ao meu orientador pelo apoio e incentivo. Sem eles nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por estar comigo e me amar em todos os momentos.

Aos meus pais, Beno Arndt e Araci Schulz Arndt pelo amor, carinho, apoio e por serem meus maiores exemplos de caráter e força. Aos meus irmãos Charles Marcelo Arndt e Jaqueline Arndt Alves.

Ao meu orientador Professor Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto, pelos ensinamentos, paciência e compreensão durante todo o mestrado.

Ao técnico do laboratório de solos, Gilberto Demétrio pelo auxílio, e aos colegas do laboratório de solos e de microbiologia do solo (LabMicros): Bruno, Danielly, Elaine, Fabiano, Gabriel, Ítalo, João, Mathilde, Nathalia, Pâmela e Sara.

Aos membros da banca examinadora pela avaliação e sugestões fundamentais para a melhoria do trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Ao programa de mestrado.

À todos os professores do programa de mestrado UENP/CLM responsáveis pela minha formação no mestrado.

À todos que de alguma maneira me ajudaram e incentivaram para a realização desse trabalho.

O MEU MUITO OBRIGADO.

***“Não se deixem enganar: ninguém pode zombar de Deus.
A pessoa sempre colherá aquilo que semear.”
Gálatas 6.7***

ARNDT, Jorge Rodrigo. **Seleção de potenciais bactérias promotoras de crescimento de plantas de soja.** 2019. (Dissertação) Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2019.

Resumo: As bactérias representam uma fonte de recursos genéticos com importante potencial biotecnológico capaz de promover o crescimento de plantas e o aumento da produtividade, além de contribuir com a sustentabilidade do sistema de produção. O objetivo do trabalho foi avaliar isolados bacterianos quanto ao potencial de promover crescimento de plantas de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) sob condições de manejo em ambiente controlado e a campo. Para tal foram realizados dois experimentos. O primeiro experimento foi conduzido em estufa plástica, em vasos com capacidade de oito litros preenchidos com solo coletado a 0-20 cm de profundidade. O segundo experimento foi realizado à campo utilizando delineamento em blocos casualizados, tendo como tratamentos quinze bactérias e um controle, com cinco repetições, totalizando oitenta parcelas. Em ambos os ensaios foram avaliados os atributos químicos e microbiológicos do solo, além de atributos agrônômicos. No ensaio a campo foi ainda avaliados o número de inflorescências e produtividade. A inoculação de bactérias promoveu aumento no crescimento da planta da soja e uma melhora nos atributos microbiológicos do solo. No ambiente controlado as bactérias 01, 02, 05, 09 e 2B se destacaram promovendo um incremento no desenvolvimento vegetal. No campo os isolados 01, 02, 08 e 09 foram destaque tanto no desenvolvimento da planta como na produtividade. Assim, conclui-se que os isolados 01, 02, 08 e 09 apresentam todas características como bactérias promotoras de crescimento de plantas, e são potenciais organismos para desenvolvimento de um produto comercial (inoculante).

Palavras chave: Análises microbiológicas; Bactérias fixadoras de nitrogênio; Nutrição de plantas.

ARNDT, Jorge Rodrigo. **Selection of potential growth promoting bacteria from soybean plants.** 2019. (Dissertação) Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2019.

Abstract: Bacteria contain a source of genetic resources with biotechnological growth potential capable of promoting plant growth and productivity, and contributing to the sustainability of the production system. The objective of this work was to evaluate bacterial isolates for their potential to promote growth of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under green house and field management conditions. For this, two experiments were performed. The first experiment was conducted in a plastic greenhouse, in pots with eight liters capacity filled with soil collected at 0-20 cm depth. The experimental design was completely randomized with fifteen bacteria and one control with five replications, totaling eighty vessels. The second experiment was carried out in a field using a randomized block design with the treatment of fifteen bacteria isolates and one control, with five replications, totaling eighty plots. In both experiments the chemical and microbiological attributes of the soil were evaluated, as well as the agronomic attributes. In the assay a field the number of inflorescences and productivity was evaluated. The bacteria inoculation promoted soybean plant growth and an improvement in the soil microbiological attributes. In the greenhouse the bacteria isolates 01, 02, 05, 09 and 2B stood out promoting an increase in plant development. In the field 01, 02, 08 and 09 were highlighted both in plant development and productivity. Thus, it is concluded that 01, 02, 08 and 09 have all characteristics as plant growth promoting bacteria, and are potential organisms for the development of a commercial product (inoculant).

Keywords: Microbiological analyzes; Nitrogen fixing bacteria; Plant nutrition.

LISTA DE SIGLAS

aC = Antes de Cristo;

AIA = Ácido indol acético;

Al³⁺ = Alumínio;

BMS = Biomassa microbiana do solo;

BPCP = Bactérias promotoras de crescimento de plantas;

Ca²⁺ = Cálcio;

CaCl₂ = Cloreto de cálcio;

CBM = Carbono de biomassa microbiana do solo;

CLM = Campus Luiz Meneguel;

CO₂ = Dióxido de carbono;

COT = Carbono orgânico total;

cv. = Cultivar

FBN = Fixação Biológica do Nitrogênio;

ha = Hectare;

K⁺ = Potássio;

KCl = Cloreto de potássio;

kg = Kilogramas;

Mg = Magnésio;

mL = Mililitro;

mm = Milímetros;

MO = Matéria Orgânica;

N = Nitrogênio;

NaOH = Hidróxido de sódio;

P = Fósforo;

pH = Potencial hidrogeniônico;

PVR = Podridão vermelha da raiz;

qCO₂ = Quociente metabólico;

qMIC = Quociente microbiano;

RB = Respiração basal do solo;

UENP = Universidade Estadual do Norte do Paraná;

UFC = Unidade formadora de colônia;

w = watts.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização química e textural do solo.....	33
Tabela 2. Produção de ácido indol acético (AIA) <i>in vitro</i> , produção de protease e amilase e fixação de nitrogênio livre (Nfb) de quinze isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR.....	34
Tabela 3. Índice de velocidade crescimento micelial (IVCM) e porcentagem de inibição (%INB) dos quinze isolados frente a quatro fungos fitopatogênicos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR.....	35
Tabela 4. Características agronômicas de plantas de soja no estágio V8 em cultivo protegido após inoculação com isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.....	42
Tabela 5. Atributos microbiológicos do solo cultivado com soja no estágio V8 em cultivo protegido após a inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.....	44
Tabela 6. Análise química do solo em pré-plantio (PP) e ao final do cultivo da soja em cultivo protegido após a inoculação com isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.....	45
Tabela 7. Características agronômicas de plantas de soja no estágio reprodutivo R4, sob cultivo a campo com inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.....	47
Tabela 8. Número de inflorescências durante os estádios reprodutivos R1, R3 e R5, produtividade (Prod) e peso de 1000 grãos (P1000) obtidos a partir de plantas de soja cultivadas a campo com inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.....	51
Tabela 9. Atributos microbiológicos do solo com cultivo de soja, em pré-plantio (PP), no estágio reprodutivo R4 (com vagens desenvolvidas) e em pós colheita (PC) com inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.....	53
Tabela 10. Análise química do solo, durante o estágio reprodutivo R4 (com vagens desenvolvidas) e em pós colheita (PC) com inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Temperatura máxima e mínima ocorrida nos meses de condução do experimento em estufa.....	32
Figura 2. Dados climáticos dos meses de condução do experimento à campo.....	33
Figura 3. Avaliação da produtividade (Kg ha^{-1}) após inoculação de quinze isolados bacterianos durante o cultivo de plantas de soja em campo. Bandeirantes, PR. 2019.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Cultura da soja.....	16
2.2 Bactérias promotoras de crescimento de plantas	16
2.3 Produção de ácido indol acético	21
2.4 Fixação biológica de nitrogênio	22
2.5 Antagonismo a fungos fitopatogênicos	25
2.6 Qualidade do solo e seus bioindicadores	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Bactérias promotoras do crescimento de plantas	34
3.2 Preparo dos isolados bacterianos para inoculação	35
3.3 Experimento conduzido sob estufa plástica modelo túnel alto.....	36
3.4 Experimento conduzido a campo.....	37
3.5 Preparo das amostras de solo	39
3.6 Análises químicas.....	39
3.7 Análises microbiológicas do solo	39
3.7.1 Carbono da biomassa microbiana	39
3.7.2 Respiração basal do solo	40
3.7.3 Quocientes metabólico e microbiano	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 Experimento conduzido em estufa.....	41
4.2 Experimento à campo	45
5 CONCLUSÃO	56
6 REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	57
7 ANEXO I	72

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado o país de maior biodiversidade do planeta, dada sua dimensão continental, variação geomorfológica e climática, o que possibilita a seleção de microrganismos capazes de promover o crescimento vegetal, garantir a manutenção da dinâmica biológica do solo e diminuir impactos ambientais pelo uso de agroquímicos (SANTOS; HANNA, 2017) e fertilizantes, que utilizados em excesso provocam efeitos nocivos como acidificação dos solos, contaminação das águas e emissão de gases do efeito estufa.

A preocupação em reduzir a degradação ambiental, motivou a procura por alternativas sustentáveis (FUNDACIÓN PRODUCE, 2006; HUNGRIA et al., 2013), como a utilização de bactérias para promover o crescimento, e o aumento da produtividade de plantas (HUNGRIA et al., 2013).

As bactérias representam uma importante fonte de recursos genéticos com promissor potencial biotecnológico para estimular o crescimento de plantas (CAMPOS, 2010; MORENO RESÉNDEZ et al., 2018), podendo ser selecionadas a partir de biofertilizantes (SHIOMI et al., 2017), que são produtos desenvolvidos para ampliar a população microbiana benéfica, aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas, reduzir a incidência de fitopatógenos, elevar a qualidade física, química e biológica, conservando o ambiente e acelerando a reestruturação dos solos degradados (FUNDACIÓN PRODUCE, 2006; UBALUA, 2007).

A quantidade de microrganismos nos biofertilizantes determina sua eficiência, em função da capacidade de liberação de metabólitos, antibióticos e fitorreguladores (BETTIOL et al., 1998). Cada grama de biofertilizante contém no mínimo 10 milhões de células bacterianas viáveis, assim, uma pequena dose do biofertilizante é suficiente para alcançar os resultados desejados (ANANDARAJ; DELAPIERRE, 2010).

O solo por natureza é o maior reservatório de microrganismos que se conhece (ROSSELLÓ-MORA; AMMAN, 2001). A atividade bacteriana é mais intensa na camada de 0-10 cm de solo, próximo das raízes das plantas, formando um ambiente único e dinâmico, onde acontecem interações entre microrganismos e plantas, denominado de rizosfera.

A biodiversidade na rizosfera é elevada e as BPCP existentes neste ambiente melhoram a qualidade do solo, de forma direta, com a fixação de nitrogênio, solubilizando fosfato e potássio e tornando-os disponíveis para as plantas, síntese de fitorreguladores como o ácido indol acético, giberelinas e citocininas. Indiretamente, as bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) produzem enzimas e antibióticos que podem induzir a uma resistência sistêmica pelas plantas, com bons resultados no biocontrole de patógenos (CARNEIRO et al., 2009).

O sucesso da inoculação depende do estabelecimento e sobrevivência das linhagens introduzidas no solo, que precisarão se adaptar às condições adversas (LEITE; ARAÚJO, 2007).

A soja é uma cultura de importância mundial do ponto de vista econômico e nutricional para humanos e animais (CRISPINO et al., 2001). Entretanto necessita de elevada quantidade de N, devido a elevada quantidade de proteína em seus grãos (CRISPINO et al., 2001).

Além dos rizóbios as BPCP atuam via vários processos biológicos na cultura da soja, que em simbiose com as estirpes selecionadas pela pesquisa consegue suprir as necessidades de N da planta, inclusive de cultivares com altos rendimentos, fazendo com que o Brasil seja considerado modelo na aplicação dos bioinoculantes (HUNGRIA; MENDES, 2015). Neste contexto, o trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho de quinze isolados bacterianos quanto ao potencial para promover o crescimento de plantas de soja, sob condições de manejo em ambiente controlado e a campo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da soja

A produção de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) alcançou relevância mundial, devido ao valor socioeconômico das inúmeras aplicações dos seus produtos e subprodutos, com expressão no mercado interno e de exportação. No cenário internacional, o Brasil ocupa a segunda colocação, sendo superado pelos Estados Unidos em área cultivada e produção total. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento 'CONAB', a produção nacional na safra 2017/2018 atingiu valores próximos a 119 milhões de toneladas em uma área de 35 milhões de hectares, com produtividade média de 3.382 Kg/ha (CONAB, 2018).

A água constitui aproximadamente 90% do peso da planta, atuando em, praticamente, todos os processos fisiológicos e bioquímicos. A disponibilidade de água é importante, principalmente, em dois períodos de desenvolvimento da soja, que compreendem a germinação-emergência e floração-enchimento de grãos. Durante o primeiro período, tanto o excesso quanto o déficit de água são prejudiciais à obtenção de uma boa uniformidade na população de plantas. A semente de soja necessita absorver, no mínimo, 50% de seu peso em água para assegurar boa germinação. Nessa fase, o conteúdo de água no solo não deve exceder a 85% do total máximo de água disponível e nem ser inferior a 50% (EMBRAPA, 2013).

A necessidade total de água na cultura da soja, para obtenção do máximo rendimento, varia entre 450 a 800 mm ciclo⁻¹, dependendo das condições climáticas, do manejo da cultura e da duração do ciclo. A soja melhor se adapta a temperaturas do ar entre 20 °C e 30 °C, sendo a temperatura ideal para seu crescimento e desenvolvimento em torno de 30 °C. O crescimento vegetativo da soja é pequeno ou nulo a temperaturas menores ou iguais a 10 °C. Temperaturas acima de 40 °C têm efeito adverso na taxa de crescimento, provocam distúrbios na floração e diminuem a capacidade de retenção de vagens (EMBRAPA, 2013).

2.2 Bactérias promotoras de crescimento de plantas

A palavra microrganismo é um termo genérico, utilizado para todos os seres vivos de tamanho diminuto. Em 1680 na Holanda, Antoni Van

Leeuwenhoek (1632-1723) fabricou um microscópio que lhe permitiu observar microrganismos existentes em diversos ambientes, como na água da chuva. Suas anotações são as primeiras descrições de microrganismos e os primeiros estudos de ecologia microbiana (NICOLAU, 2014). Entretanto, o conhecimento sobre uma provável relação entre os microrganismos presentes no solo e o crescimento de plantas, existe, desde a antiguidade. Theophrastus (372 – 287 aC) a partir de suas observações e experiência, sugeriu uma mistura de diferentes solos, como capaz de provocar benefícios às plantas, hoje sabe-se que esse efeito foi oriundo dos microrganismos presentes no solo (VESSEY, 2003).

Um grama de solo possui em torno de 10 mil espécies de microrganismos, distribuídas em cerca de 1 bilhão de bactérias, 1 milhão de actinomicetos e 100 mil fungos (MENDES; BUENO, 2013). Ao longo dos séculos, o estudo destes microrganismos, sua dinâmica, interações com plantas, participação na funcionalidade dos ecossistemas e reprodução tem se mostrado vital para a sustentabilidade dos solos (COTTA, 2016).

As bactérias formam o grupo de maior importância na população microbiológica, pois, desempenham funções imprescindíveis atuando na decomposição de compostos orgânicos, ciclagem de nutrientes, solubilização de fósforo, fixação biológica do nitrogênio (FBN), síntese de reguladores de crescimento vegetal, enzimas e substâncias antimicrobianas (COTTA, 2016). Além disso participa da estruturação do solo, influencia no pH, reduz os níveis tóxicos de agroquímicos e metais pesados, proporcionando maior desenvolvimento da comunidade vegetal (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A abundância e diversidade das bactérias é vital para que os diferentes processos do solo possam ocorrer frente às variações ambientais mantendo sua funcionalidade, visto que, diferentes organismos possuem diferentes características fisiológicas e ecológicas (BEVER et al., 2012). O uso de bactérias no cultivo agrícola para estimular o desenvolvimento das plantas e o incremento da produção, hoje é uma ferramenta disseminada entre os profissionais da área e agricultores no manejo de sistemas agrícolas sustentáveis. Neste contexto, tem sido intensamente estudado um grupo bacteriano, denominado de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) (FREITAS, 2007).

O termo BPCP se refere as bactérias que habitam a rizosfera e influenciam positivamente o desenvolvimento das plantas e foi utilizado pela primeira vez em 1989, por Kloepper (LABRA-CARDÓN et al., 2012).

Rizosfera é a região no solo onde a atividade microbiológica é intensa e com forte influência das raízes. A exsudação de moléculas de baixo peso molecular pelas raízes, resulta na atração e na seleção de comunidades microbianas, possibilitando o seu crescimento até 100 vezes maiores do que em regiões não rizosféricas (BAIS et al., 2006; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A comunidade rizosférica é formada por microrganismos com diferentes tipos de metabolismo e respostas adaptativas, a variações em função de espécies de plantas, estado nutricional, doenças, idade, estresse, tipo de solo entre outros fatores (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

A microbiota do solo é dependente de carbono, ou seja, necessita de fontes externas de compostos orgânicos energéticos para sua nutrição. As plantas, porém, secretam até 40% dos seus fotossintatos na rizosfera elevando a densidade e atividade da população microbiana na rizosfera em relação ao solo não rizosférico, e este fenômeno é conhecido como “efeito rizosférico” (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Assim, a rizosfera é um ambiente adequado, para o crescimento e desenvolvimento da população das BPCP, através de interações diretas ou indiretas com as raízes, auxiliando na manutenção e desenvolvimento das plantas (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

O material encontrado na rizosfera inclui compostos de menor e maior peso molecular, como monômeros (glicose e aminoácidos), polímeros (polissacarídeos e proteínas), que são substâncias prontamente utilizadas pelos microrganismos (PANDEY; PALNI, 2007). Também estão presentes resíduos de plantas, células microbianas e enzimas extracelulares. Conforme Weller (2007), o grupo das *Pseudomonas* foi o primeiro a ser estudado entre as BPCPs, devido a sua ocorrência de forma natural e em elevadas populações, ao fato de serem nutricionalmente versáteis e possuírem habilidade de crescer numa ampla faixa de condições ambientais, capacidade de competir com os patógenos de solo, além de produzirem uma variedade de reguladores de crescimento de plantas, sideróforos e antibióticos (MELO; AZEVEDO, 1998).

As BPCPs incluem também os gêneros como *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Phyllobacterium*, *Rhizobium* e *Serratia* (HUNGRIA et al., 2010).

As atividades que ocorrem na rizosfera interferem no crescimento e proteção da planta e na qualidade do solo, uma vez que o desempenho microbiano neste local auxilia o desenvolvimento das plantas hospedeiras em condições de estresse hídrico, deficiências minerais, e na presença de fitopatógenos do solo (KNOB, 2005).

O modo de ação das BPCPs não está totalmente esclarecido, entretanto, sabe-se que elas atuam de forma direta, quando são responsáveis pela reação ou, indireta quando fornecem condições para que ela ocorra (ESQUIVEL-COTE et al., 2013). Atuam de forma direta no ciclo dos nutrientes, tornando os elementos minerais assimiláveis pelas plantas. Elas realizam a degradação de compostos nitrogenados e podem se associar aos rizóbios (PRESTON, 2004). Disponibilizam fósforo ao solubiliza-lo e mineralizam fosfatos pela ação das enzimas fosfatases, encontradas tanto em solos ácidos (pH 6,5) quanto nos alcalinos (pH 11), transformando o fósforo orgânico em inorgânico (KNOB, 2005).

As BPCPs atuam também na estabilidade estrutural do solo, pois decompõem a matéria orgânica rapidamente, fazendo com que aumente a capacidade de retenção de água, nutrientes, atividades biológicas e enzimáticas, e a união das partículas (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Várias espécies diazotróficas vivem livres no solo e nos sistemas agrícolas elas são limitadas pela disponibilidade de fontes de carbono. O tipo de resíduo vegetal em decomposição é relevante, pois dependendo da sua relação carbono/nitrogênio, a velocidade da degradação é alterada (BISSANI et al., 2008; CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Além da natureza do material, a temperatura e a umidade do solo, textura e mineralogia, controlam a taxa de decomposição. As plantas são as principais responsáveis pelo fornecimento de matéria orgânica, que por sua vez, responde pelo teor de carbono, carboidratos e proteínas totais oriundos da decomposição dos resíduos e do metabolismo microbiano (FARIA et al., 2008; GUERRA et al., 2008).

As bactérias com potencial aplicação no controle biológico, atuam de forma indireta, sendo capazes de reconhecer bactérias fitopatogênicas, e neste

caso, atuar nos mecanismos de defesa. O controle biológico de patógenos do solo, reduz a densidade do inóculo ativo ou dormente através de parasitismo, predação, competição ou antibiose (VENZON et al., 2010), inibindo o crescimento de fitopatógenos e a frequência de raízes por eles infectadas (MENDES et al., 2011). Podem induzir resistência sistêmica no hospedeiro ou competição por espaços favoráveis na rizosfera (CHAPARRO et al., 2012).

Espécies diferentes de bactérias podem interagir e evitar a infecção por fitopatógenos (VAN ELSAS et al., 2012). Deste modo, tem sido ampliada a área de estudos visando o controle de fitopatógenos em plantas cultivadas através das BPCPs, como alternativa aos produtos químicos (LEITE; ARAÚJO, 2007; HARDOIM et al., 2008; COMPANT et al., 2010). Cada vez mais busca-se por BPCP que tenham mais de um mecanismo de ação, possibilitando melhor desenvolvimento das plantas e aumento da produtividade agrícola.

Bactérias podem induzir ou ser mediadoras de tolerância a estresses abióticos como salinidade, seca, inundações, temperaturas muito altas ou baixas, deficiência de nutrientes e metais tóxicos (DIMKPA et al., 2009). Bactérias podem ainda produzir substâncias osmotolerantes, como, por exemplo, glicina-betaína que pode atuar sinergicamente com os outros compostos vegetais na redução do potencial hídrico das células, ajudando na tolerância à seca (DIMKPA et al., 2009).

A produção de prolina pode ser estimulada nas plantas na presença de bactérias em resposta a estresses bióticos e abióticos, pode mediar o ajuste osmótico, e proteger membranas e proteínas contra efeitos adversos do aumento da concentração de íons inorgânicos (GROVER et al., 2011).

A percepção de um estresse abiótico pela planta pode levar a uma proteção cruzada de outro estresse. Por exemplo, o aumento da síntese de aminos quaternárias como glicina-betaína, aumenta a resistência a deficiência hídrica, mas também protege a planta contra frio e salinidade (DIMKPA et al., 2009).

Para Dimkpa et al. (2009), bactérias podem intermediar mudanças na elasticidade das paredes das células radiculares, o que seria um dos primeiros passos para melhorar a tolerância ao estresse hídrico.

Trabalhos com inoculação de bactérias mostraram que plantas tratadas possuíam potencial hídrico mais elevado do que as plantas controle sob estresse hídrico (CREUS et al. 2004), garantindo assim vantagens na regulação do balanço hídrico. A inoculação dessas bactérias em plantas pode ainda aliviar os

efeitos negativos causados pelo estresse, garantindo maior fotossíntese e abertura estomática (HAN; LEE, 2005).

O tratamento com bactérias parece ser mais favorável em situação de restrição hídrica. Plantas de arroz tratadas com bactérias apresentaram maior diferença de massa entre plantas tratadas em relação ao controle sem bactérias em condições de menor disponibilidade de água, enquanto que em situação de disponibilidade hídrica essa diferença não foi registrada (YUWONO et al., 2005).

Na literatura existem estudos relacionando o aumento nos percentuais de germinação de sementes e, emergência de plântulas com as BPCP (MARIANO et al., 2004). Isolados bacterianos aumentaram a massa da matéria seca da raiz e o número de folhas em alface (SOTTERO et al., 2006). Estudos desenvolvidos por Sala et al., (2007), comprovaram que a inoculação de *Azospirillum*, *Achromobacter* e *Zoogloea* na cultura do trigo, proporcionou maior produtividade das plantas e rentabilidade ao agricultor. Govindarajan et al. (2006), obtiveram ganhos de 19 e 20% na produtividade da cana-de-açúcar após a inoculação com *Burkholderia vietnamiensis*, Chagas Junior et al. (2010) verificaram que a inoculação em plantas de feijão caupi produziu biomassa e grãos, semelhantes aos observados com adubação de 50 Kg.ha⁻¹ de N.

A dimensão da importância da relação entre BPCP em plantas de soja pode ser exemplificada, utilizando-se o trabalho de Sobral (2003), no qual foram isoladas 361 cepas bacterianas provenientes das raízes desta leguminosa. O gênero *Bacillus* apresentou potencial biotecnológico, beneficiando o desenvolvimento e a nutrição das plantas de soja. A dupla inoculação com *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e/ou *B. elkanii* aumentou o número de nódulos e a produtividade em soja (HUNGRIA et al., 2006).

No experimento de Avila et al. (2016), dos 70 isolados bacterianos provenientes de raízes de soja, 39 apresentaram, mesmo que em baixas quantidades, a capacidade de sintetizar AIA, sendo que 22% deste total foram considerados forte produtores. Entretanto, para que estes isolados sejam utilizados como possíveis BPCP, existe a necessidade de novos estudos, relacionados a existência de outros modos de atuação, doses e formas de aplicação.

2.3 Produção de ácido indol acético

O ácido indol acético (AIA) participa da elongação, divisão e diferenciação das células recém formadas dos tecidos meristemáticos, com destaque no desenvolvimento de raízes, aumentando o comprimento e o número de pêlos, a superfície de contato, absorção de água e nutrientes do solo e estimula a formação de nódulos (PATTEN; GLICK, 2002; MARCHIORO, 2005; BAIS et al., 2006).

Cerca de 80% das bactérias presentes na rizosfera produzem AIA. O AIA não funciona como um hormônio nas células bacterianas, esta habilidade pode ter evoluído devido a sua importância na relação bactéria planta (PATTEN; GLICK, 2002). Grandes foram os avanços na compreensão da via de sinalização do AIA em plantas, através da pesquisa sobre os aspectos da síntese bacteriana de AIA e seu efeito na planta, porém, é necessária uma investigação mais detalhada (SPAEPEN et al., 2007).

A análise da síntese de AIA por bactérias na rizosfera nem sempre é possível, fazendo com que a análise *in vitro*, seja a técnica comum para esse procedimento. Existem duas vias de biossíntese propostas para AIA, uma via dependente de triptofano e outra independente dele. Há evidências de que um microrganismo pode selecionar uma rota em particular para a biossíntese de AIA, de acordo com o ambiente. A maioria delas ocorre via triptofano (PATTEN; GLICK, 2002). Com a adição de L-triptofano em análises *in vitro*, é possível aumentar a biossíntese e estimar a quantidade de AIA produzida pelas bactérias (SPAEPEN et al., 2007).

A biossíntese de AIA por bactérias pode estimular, inibir ou não exercer efeito sobre o crescimento vegetal, os efeitos contrastantes do AIA variam em função da quantidade disponível para a planta e a sensibilidade do hospedeiro (SPAEPEN et al., 2007). Nos trabalhos de Pedrinho et al. (2010) com milho e no de Assumpção et al. (2009) com soja houve incrementos significativos sobre o crescimento destas plantas. Entretanto Li et al. (2008) não observaram uma correspondência entre a síntese de AIA por bactérias com o desenvolvimento das plantas de soja. Remans et al. (2008), concluíram que o AIA bacteriano atua no estabelecimento e eficiência da simbiose no processo de nodulação de plantas de feijão.

2.4 Fixação biológica de nitrogênio

Nos vegetais o nitrogênio é assimilado com rapidez, e no cultivo tradicional costuma ser disponibilizado pelos fertilizantes nitrogenados. No solo, cerca de um terço deste elemento pode estar na forma de complexos proteicos com coloides. O nitrogênio está associado à matéria orgânica e diversos processos influenciam em sua dinâmica no solo, como a volatilização, mineralização, lixiviação, nitrificação, desnitrificação e imobilização (BISSANI et al., 2008; MELERO et al., 2013).

Este nutriente é absorvido pelas plantas na forma de nitrato e amônio e participa na formação de ácidos nucleicos, enzimas, aminoácidos, proteínas, molécula de clorofila e funções metabólicas, com ação efetiva na formação da enzima rubisco que atua na fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2009; PRANDO et al., 2012).

A crise do petróleo aumentou os custos dos fertilizantes nitrogenados, pois, para a produção destes insumos são necessários, em média, seis barris de petróleo para cada tonelada de amônia (CRISPINO et al., 2001). Deste processo resultam resíduos tóxicos que ocasionam graves prejuízos ao ambiente (LADHA; REDDY, 2003). Quando estes fertilizantes são utilizados em doses excessivas por períodos prolongados, os microrganismos nitrificantes se beneficiam e sintetizam elevadas quantidades de óxido nitroso e nítrico, que acabam atuando no fluxo desse elemento na atmosfera, e sendo um dos responsáveis pelo efeito estufa (BRASIL, 2017).

Neste cenário, a fixação do nitrogênio por bactérias em países potencialmente agrícolas foi valorizada e ganhou notoriedade, na medida em que, alia retorno financeiro e vantagens ambientais (ALBINO et al., 2006). O sucesso da fixação biológica do nitrogênio depende do conhecimento sobre o comportamento das bactérias diazotróficas e como interagem com as plantas, a seleção de estirpes e genótipos de plantas que se associem eficientemente é a chave para esse processo (QUESADA et al., 2001).

A leguminosa de maior importância mundial do ponto de vista econômico e nutricional para humanos e animais é a soja, que possui cerca de 40% de proteína em seus grãos (CRISPINO et al., 2001). A quantidade de N absorvida pela planta durante seu ciclo afeta o teor de proteínas nas sementes, onde o N é

acumulado na forma de proteínas específicas de armazenamento (BONO et al., 2008).

As plantas de soja necessitam de elevada quantidade deste nutriente, sendo requisitados 80 kg, para produção de 1.000 kg de grãos de soja (CRISPINO et al., 2001). O nitrogênio pode ser fornecido de quatro maneiras, a primeira é pela decomposição da matéria orgânica, estando a dinâmica do nitrogênio relacionada à do carbono, já que ambos compõem a matéria orgânica do solo, porém, este reservatório é limitado, podendo ser esgotado rapidamente após alguns cultivos (BAYER et al., 2000).

O segundo modo, através da fixação não biológica, que contribui com pequenas quantidades, resultantes de descargas elétricas, combustão e vulcanismo. Os fertilizantes nitrogenados são a forma usual de suprir este elemento, sendo esta a terceira forma, porém, apresenta desvantagens consideráveis, como problemas ambientais e aumento no custo de produção (CRISPINO et al., 2001). A quarta maneira ocorre pela atividade das bactérias fixadoras de nitrogênio que podem ser de vida livre ou, as do gênero *Rhizobium*. Estas bactérias se unem a planta hospedeira, e estabelecem uma relação de simbiose mutualística com benefícios para ambos os envolvidos (EHRHARDT-BROCARD, 2013).

A FBN se caracteriza pela formação de estruturas especializadas nas raízes, chamadas de nódulos, induzidas pelas bactérias, que colonizam estes nódulos e invadem o citoplasma da célula hospedeira onde realizam o processo de fixação do nitrogênio atmosférico utilizado pelas plantas, eliminando ou diminuindo a necessidade de adubos nitrogenados (MENDES et al., 2010). A planta, em contrapartida, fornece energia e nutrientes para a bactéria.

Os genes para fixação de nitrogênio, chamados de nif, são encontrados tanto em sistemas simbióticos, quanto em sistemas livres (REED et al., 2011). A combinação entre bactérias de vida livre presentes na rizosfera e, as encontradas nos nódulos das raízes podem desempenhar funções conjuntas, produzindo efeito sinérgico, que supera os resultados produtivos obtidos quando utilizadas isoladamente (BÁRBARO et al., 2008).

A fixação biológica do N atmosférico é realizada por uma parcela dos procariotos diazotróficos (MOREIRA et al., 2010), tendo início com a adaptação da bactéria à planta (FAGAN et al., 2007). A maioria das espécies de diazotróficos é

de vida livre, ocorrendo em todos os tipos de solo, na região da rizosfera podendo estabelecer associações com plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A FBN é fundamental para a agricultura e, como consequência os rizóbios são os microrganismos diazotróficos com maior abrangência e diversificação de estudos científicos. A FBN é considerada a responsável pela entrada de 65% do N no solo e, portanto, o maior provedor deste mineral (HUNGRIA et al., 2001). Segundo Hungria et al. (2007) para produção de 3000 Kg.ha⁻¹ de soja, são necessários 480 Kg de nitrogênio mineral, que podem ser fornecidos em sua totalidade pelas espécies *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii*, que tornam o nitrogênio do ar assimilável pela planta. As bactérias utilizam substâncias que as raízes liberam para o solo, dando início as reações químicas que acabam por abrigar a bactéria fixadora de nitrogênio na raiz da planta.

O mercado de inoculantes para leguminosas na América do Sul supera 40 milhões de doses anuais, mais de 95% destinados à cultura da soja. Com atual destaque para os gêneros *Azospirillum*, *Pseudomonas* e *Bacillus* que quando coinoculado com *Bradyrhizobium* promovem o crescimento de plantas e/ou controle biológico (HUNGRIA, 2011). Contudo, a variabilidade quanto à eficiência do processo simbiótico, entre as estirpes que nodulam a soja, origina diferentes interações entre bactérias e os cultivares disponíveis (QUESADA et al., 2001; CARVALHO, 2003).

O investimento em pesquisas multidisciplinares e integradas entre microbiologia, ciência do solo, melhoramento de plantas e manejo de culturas, alcançam benefícios significativos para todo o ecossistema, aumentando a produção de alimentos e diminuindo o uso de fontes externas de fertilizantes nitrogenados (MENDES et al., 2010).

2.5 Antagonismo a fungos fitopatogênicos

O nicho ecológico ocupado pelas BPCP semelhante ao dos fitopatógenos e, a relação benéfica estabelecida com as plantas, faz com que tais bactérias possam atuar no controle de doenças. Estas bactérias colonizam rapidamente as superfícies das raízes e utilizam os nutrientes disponíveis no solo, limitando a sobrevivência de microrganismos deletérios que são agentes causadores de doença (VERHAGEN et al., 2004).

As bactérias do solo geralmente possuem características que lhes permite agir como antagonistas, excretando metabólitos que realizam o controle dos agentes causadores de podridões em sementes, raízes e colo de plantas (TOKESHI, 2000; HAAS; DÉFAGO, 2005). A produção de antibióticos é um dos mecanismos de maior relevância, no biocontrole realizado pelas BPCP contra fitopatógenos e, numerosos estudos, vêm sendo realizados para elucidar as interações entre antagonista-patógeno-hospedeiro (SHILEV, 2013).

O controle biológico de patógenos de solo causadores de doenças em plantas, reduz a densidade do inóculo ativo ou dormente através de parasitismo, predação, competição ou antibiose (VENZON et al., 2010). A diversidade de microrganismos e suas relações antagônicas, são importantes ferramentas que se apresentam como alternativa racional e eficiente para a redução do uso de agroquímicos no controle de fitopatógenos (RYAN et al., 2008; THANH et al., 2009). Os efeitos deletérios dos fitopatógenos são reduzidos pelo rompimento de suas paredes celulares através de enzimas e pela síntese de antibióticos por BPCP, entretanto, o excesso de antibióticos pode induzir o desenvolvimento de resistência nestes microrganismos (GLICK et al., 2007).

O potencial de uso das BPCP como ferramenta para o controle biológico já foi comprovado na literatura científica, por exemplo, com rizobactérias antagonistas no controle da murcha bacteriana (ANITH; MOMOL, 2004; LEMESSA; ZELLER, 2007). O tombamento de plantas provocado por *Rhizoctonia solani*, pode ser controlado por *Pseudomonas* sp e *Bacillus* sp. (MARIANO et al., 2004).

Dois isolados de *Rhizobium meliloti* demonstram desempenho satisfatório no controle de doenças, transmitidas por sementes infectadas por *Macrophomina phaseolina* (ARORA et al., 2001), agente causal de doenças com prejuízos significativos em diversas plantas hospedeiras (SU et al., 2001).

Experimentos foram conduzidos em cultivo protegido e a campo com *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium* e *Pseudomonas*. Sementes tratadas com todas as BPCP controlaram a doença, sendo que *Bacillus* demonstrou elevada eficiência pela maior quantidade de plantas sadias (EL-BAROUGY et al., 2009).

A doença podridão vermelha da raiz 'PVR', causada por *Fusarium solani* ssp. *glycines*, se destaca pelos danos crescentes causados na cultura da soja (GÁSPERI et al., 2003). Embora estivesse presente no Brasil desde a década de 80,

apenas nos anos 90 passou a causar maiores prejuízos, tornando-se um grande problema para os sojicultores, técnicos e pesquisadores, visto que não existe controle químico ou cultural eficiente, a doença ocorre principalmente nos estados da região Sul e nas áreas de cerrado com maior altitude (FRONZA, 2003).

Os sintomas típicos são manchas cloróticas e necróticas internervais e a região das nervuras permanecem com coloração verde normal (AMORIM et al., 2018), sendo mais evidentes próximo a fase de florescimento, podendo progredir até a total desfolha das plantas. Na raiz os sintomas geralmente são observados a dois centímetros abaixo do solo, caracteriza-se inicialmente como uma mancha avermelhada, com a evolução da doença as lesões atingem toda a raiz, com posterior necrose, nas lesões podendo ser observada uma massa azulada de esporos do patógeno, que progride até a morte da planta (FARIAS NETO et al., 2008).

Cultivares de soja suscetíveis apresentam severos sintomas foliares e redução de 27% a 40% da produtividade de grãos (FARIAS NETO et al., 2006).

A podridão branca da haste, causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é um patógeno de mais de 400 espécies de plantas, incluindo várias de importância econômica (ABDULLAH et al., 2008). É uma doença de grande importância para a cultura da soja em muitas regiões do Centro-Sul do Brasil. Alta precipitação pluvial durante a safra, aliada e temperaturas amenas favorecem a proliferação da doença (LEITE, 2005). Em vários países e em condições favoráveis, as perdas causadas pelo fungo na cultura da soja chegam a 100% (SILVA et al., 2008).

Os sintomas atingem todos os órgãos da planta concentrando-se no terço médio, o período mais suscetível compreende a fase de floração até o início da formação das vagens (AMORIM et al., 2018) caracterizam-se por apresentarem necrose no caule e murchamento, seguido da seca das folhas, é possível observar o crescimento de micélio cottonoso e branco na superfície dos tecidos lesionados, que sobrevive no solo e restos de culturas através de sua estrutura de resistência, o escleródio (LEITE, 2005; FURLAN, 2015).

O uso de cultivares resistentes, práticas culturais e a utilização de agroquímicos são os métodos de controle mais empregados (BARDIN; HUANG, 2001), porém o controle biológico vem sendo utilizado como método alternativo, sendo empregado quando os escleródios estão em estado de repouso no solo ou no

estágio de germinação, período em que o patógeno é mais vulnerável no ambiente (ZANCAN et al., 2012).

2.6 Qualidade do solo e seus bioindicadores

O solo constitui, sob o enfoque funcional agrícola, um ecossistema natural, dinâmico e heterogêneo, composto por partes sólidas, líquidas, gasosas, frações minerais, orgânicas, água, ar e seres vivos. Este ambiente fornece sustentação e supre todas as necessidades para o desenvolvimento das plantas (SANTOS et al., 2013; DENARDIN et al., 2014). A qualidade do solo, se refere à capacidade do solo de sustentar a produtividade biológica dentro do ecossistema, promovendo a saúde de plantas e animais e do próprio ser humano e mantendo o equilíbrio ambiental (SPOSITO; ZABEL, 2003).

O conceito de qualidade do solo foi inicialmente explorado e estudado, como o resultado de parâmetros químicos e físicos associado ao conceito de fertilidade (KARLEN et al., 2003). Entretanto, para avaliar a qualidade do solo é necessário compreender que se trata de um sistema complexo, composto por fatores bióticos e abióticos. Estes fatores interagem entre si e qualquer interferência traz consequências, nem sempre benéficas, por isto, o monitoramento constante, incluindo a análise da microbiota e das atividades microbiológicas, além dos atributos químicos e físicos é essencial para o manejo sustentável dos solos (SPOSITO; ZABEL, 2003; PÔRTO et al., 2009), não basta apenas que o solo apresente alta fertilidade, é necessário também, possuir boa estruturação e abrigar uma alta diversidade de organismos (ZILLI et al., 2003).

A funcionalidade, sustentabilidade e qualidade dos solos dependem também da participação e da biodiversidade microbiológica, pois, estão associados à sua estabilidade perante os distúrbios ambientais naturais ou antrópicos. Assim, devido a sua decisiva contribuição sobre a produtividade, os microrganismos passaram a atrair a atenção da comunidade científica, sendo reconhecidos por seus valiosos serviços ambientais, que interligam ecossistemas (DENARDIN et al., 2014; JURBURG; SALLES, 2015). Portanto, avaliar a qualidade do solo de um local ou região é um trabalho minucioso que requer a análise dos componentes, de pelo menos duas de suas três características: físicas, químicas e biológicas, a fim de evitar conclusões equivocadas (CARNEIRO et al., 2009; CAMPOS, 2010).

As propriedades biológicas estimam a capacidade que um solo possui, de atender as necessidades dos vegetais, desde seu estabelecimento até a colheita (PASCUAL et al., 2000).

As avaliações da atividade microbiana, como a biodiversidade, respiração do solo, a biomassa microbiana, a utilização de fontes de carbono e atividades enzimáticas relacionadas aos ciclos biogeoquímicos, sob diferentes sistemas de uso, têm sido eficientes indicadores, fornecendo dados importantes em resposta às tensões e distúrbios (KARLEN et al., 2003; PULLEMAN et al., 2012).

As transformações bioquímicas no sistema solo-planta são dependentes ou relacionadas à presença das enzimas, as quais têm participação essencial nos ciclos dos elementos no solo, a maioria das enzimas é sintetizada por microrganismos presentes na rizosfera. A adubação orgânica, presença de vegetação e rotação de culturas, são fatores que favorecem a atividade enzimática (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Os microrganismos do solo não absorvem compostos de elevado peso molecular, eles produzem enzimas extracelulares que realizam a quebra dessas moléculas, fazendo com que elas possam ser assimiláveis. As longas cadeias de moléculas de glicose que unidas formam o amido, para serem utilizadas passam por um processo de hidrólise, com reações promovidas pelas amilases, que resultam na liberação de moléculas de glicose com menor peso molecular (TÓTOLA; CHAER, 2002; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os sistemas enzimáticos podem também ser empregados para avaliar a influência do manejo sobre a qualidade, principalmente na camada de 0 a 5 cm (MENDES; REIS JUNIOR, 2004). Enzimas são macromoléculas proteicas, que aceleram reações bioquímicas, participam da ciclagem de nutrientes e regulam processos vitais, que de outra maneira, ocorreriam em velocidades extremamente baixas (NELSON; COX, 2004). Assim, o comportamento microbiano, além de ser um indicador biológico, também serve como parâmetro bioquímico, com reflexos sobre a performance enzimática do solo. Enzimas como as amilases, lipases e proteases são responsáveis pelas etapas iniciais da decomposição de compostos orgânicos do solo, agindo como catalisadoras dos processos metabólicos que liberam nutrientes para as plantas e microrganismos (MAKOL; NDAKIDEMI, 2008; BURNS et al., 2013).

As múltiplas funções que as enzimas exercem no solo indicam a diversidade de atividades desempenhadas pelos microrganismos (CLAASSENS et

al., 2008). Estas enzimas, sensíveis ao manejo do solo estão diretamente relacionadas com as transformações dos nutrientes, e por isso são eficientes indicadores da qualidade do solo e da comunidade microbiana (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007; VASCONCELLOS et al., 2013). A quantificação da atividade enzimática fornece informações sobre alterações nos processos metabólicos, contribuindo para melhor compreensão sobre os efeitos das práticas de manejo e uso, empregadas no solo (CARNEIRO et al., 2008).

A quantidade, diversidade e a atividade das populações de bactérias, fungos, algas e protozoários que vivem no solo dependem da disponibilidade de matéria orgânica, textura, pH, composição química, temperatura e aeração destes locais (CHEN et al., 2003). Os bioindicadores mais utilizados são o carbono da biomassa microbiana 'CBM', a respiração basal do solo 'RB', o quociente metabólico ' qCO_2 ', enzimas, diversidade, densidade e atividade de grupos funcionais chave (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; VASCONCELLOS, 2013).

A biomassa microbiana do solo 'BMS' é considerada a fração viva do solo, excluindo-se os organismos da megafauna ($> 0,2$ mm) e as raízes ativas das plantas (VENZKE FILHO, 2003). Esta biomassa atua na transformação da matéria orgânica (MO) liberando nutrientes como N, P e S prontamente disponíveis para as plantas. Com isso, a BMS também influencia diretamente o fluxo de energia do sistema, definindo a qualidade nutricional e ambiental das diferentes condições edáficas (VENZKE FILHO, 2003; MOREIRA; MALAVOLTA, 2004).

Uma forma de avaliação da BMS se dá pela quantificação do carbono da biomassa microbiana (CBM). Este valor obtido pode indicar a quantidade de organismos presentes, mas não apresenta relação direta com as atividades realizadas pelos mesmos, já que existe no solo uma fração da biomassa que pode estar inativa (MENDES et al., 2009). A respiração basal do solo (RB) é um importante método para a determinação da atividade microbiana, que avalia a quantidade de CO_2 liberada, tanto de organismos aeróbios quanto anaeróbios.

Através da relação RBS e CBM se obtém o quociente metabólico (qCO_2) outra ferramenta, para análise das atividades bioquímicas do solo (JENKINSON; POWLSON, 1976; BRAGA et al., 2016).

Os valores de qCO_2 em relação ao estresse sofrido pela população microbiana variam de acordo com a limitação nutricional, o contato com produtos tóxicos, acidez do solo e qualquer perturbação de origem antrópica causada pelo

manejo (ANDERSON; DOMSCH, 1993). Portanto, alta liberação de CO₂ indica elevada respiração, diminuindo a eficiência na conversão do carbono assimilado em biomassa, indicando assim, o nível de estresse sofrido pela comunidade (MENDES et al., 2009). O quociente microbiano (*qMIC*), obtido a partir da razão entre o CBM e o COT, pode estimar a qualidade da matéria orgânica inserida no sistema, sendo outra ferramenta de análise para ampliar a compreensão da influência da matéria orgânica no sistema (SILVA et al., 2010).

A qualidade do solo influencia o potencial de uso, a sustentabilidade do agroecossistema e a produtividade, portanto, seu estudo visa fornecer informações sobre o manejo do solo, possibilitando a tomada de decisões para melhor utilização desse recurso (SPOSITO; ZABEL, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram conduzidos no Campus Luiz Meneghel (CLM) da Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Bandeirantes/PR, nos períodos de dezembro de 2017 a fevereiro de 2018 e de outubro de 2018 a março de 2019.

O município de Bandeirantes localiza-se nas coordenadas 50°29'44,08" - 50°09'42,56" W e 23°17'5,10" - 23°00'58,40" S, precipitação média anual de 1.300 mm (EMBRAPA, 2006). A classificação do clima é Cfa (Köppen e Geiger) subtropical úmido. O solo da área de estudo é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico (EMBRAPA, 2006).

O primeiro foi conduzido em estufa plástica modelo túnel alto de cultivo forçado e o segundo à campo, na fazenda escola do CLM/UENP, utilizando-se sementes de soja comerciais da cv. M6410 IPRO com hábito de crescimento indeterminado, grupo de maturação 6.4, com germinação mínima de 80% e pureza de 99%, adquiridas no comércio local.

Os dados de temperatura máxima e mínima do ar (Figuras 1 e 2), e precipitação pluvial (Figura 2), ocorridos nos meses de condução dos experimentos, foram obtidos da estação agrometeorológica do IAPAR localizada na UENP. As características químicas e textural do solo utilizado estão apresentados na Tabela 1. Para caracterização química e textural inicial, foram retiradas sete amostras de solo da área reservada para o experimento conduzido no campo, distantes 15 m entre os pontos de coletas, que a seguir foram homogeneizadas para se obter uma amostra composta, da qual foi retirado o material utilizado nas análises realizadas no laboratório de solos do CLM/UENP.

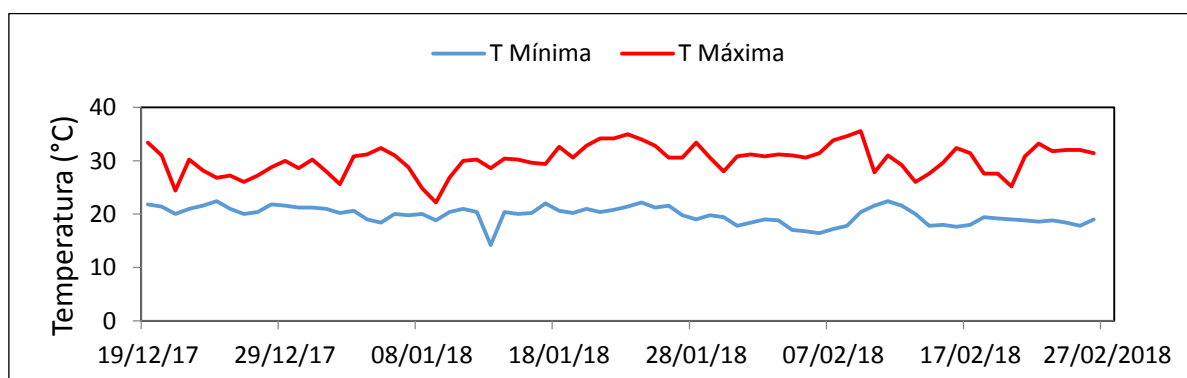


Figura 1. Temperatura máxima e mínima ocorrida nos meses de condução do experimento em estufa.

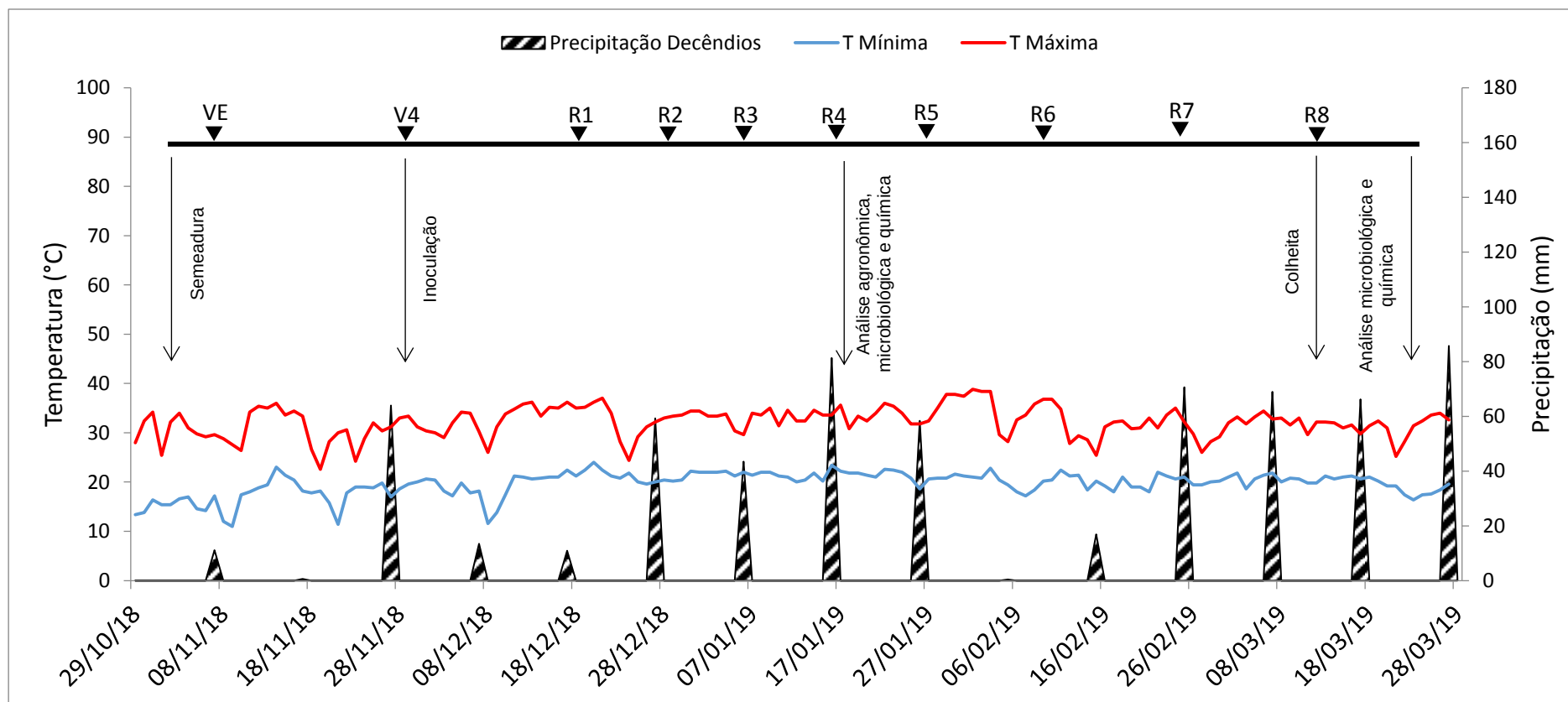


Figura 2. Dados climáticos dos meses de condução do experimento à campo.

Tabela 1. Caracterização química e textural do solo.

COT	MO	pH	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC
g kg	g kg	CaCl ₂	g dm ³		cmol _c dm ³					
12,7	21,9	4,8	17,8	0,6	5,9	1,9	0,2	6,2	8,5	14,7

Análise Textural: Areia = 10%; Silte = 13% e Argila = 77%

3.1 Bactérias promotoras do crescimento de plantas

Foram avaliados 15 isolados bacterianos, denominados de isolados 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10 e 11 (isolados de solo com aplicação de adubo biológico), 1B, 2B, 3B e 4B (isolados de adubo biológico comercial), pertencentes à coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia do Solo (LabMicroS) da UENP/CLM.

Os isolados bacterianos utilizados foram caracterizados por Paula (2018) quanto à produção de ácido indol acético (AIA), capacidade de produzir enzimas (protease e amilase) e de fixação nitrogênio livre (Nfb) (Tabela 2) e a atividade antagonista contra os fungos *Fusarium solani* isolado 1 e 2, *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum* (Tabela 3).

Todas as sementes no momento da semeadura foram inoculadas com produtos comerciais, contendo *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e SEMIA 5019, seguindo-se as doses indicadas nos rótulos das embalagens de cada produto. No tratamento testemunha, as sementes foram inoculadas apenas com os produtos comerciais.

Tabela 2. Produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro*, produção de protease e amilase e fixação de nitrogênio livre (Nfb) de quinze isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR.

Isolados	AIA $\mu\text{g mL}^{-1}$	Protease	Amilase	Nfb
01	31,33	+	+	-
02	11,93	+	+	+
03	15,10	+	+	-
04	22,25	+	+	-
05	15,39	+	+	-
06	13,49	-	-	+
07	13,50	+	-	-
08	16,70	+	-	+
09	20,02	-	-	-
10	17,97	-	-	-
11	18,77	-	-	-
1B	12,02	-	-	-
2B	16,75	-	+	-
3B	30,83	-	+	-
4B	8,56	+	-	+

AIA = ácido indol acético; + = resultado positivo para produção; - = resultado negativo para a produção.

Tabela 3 Índice de velocidade crescimento micelial (IVCM) e porcentagem de inibição (%INB) dos quinze isolados frente a quatro fungos fitopatogênicos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR.

Isolados	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		<i>Macrophomina phaseolina</i>		<i>Fusarium solani 1</i>		<i>Fusarium solani 2</i>	
	IVCM	% INB	IVCM	% INB	IVCM	% INB	IVCM	% INB
Controle	5,92	-	15,88	-	10,29	-	11,57	-
01	1,38	76,69	9,56	39,80	5,57	45,87	5,36	53,67
02	2,75	53,55	10,25	35,45	8,71	15,35	7,43	35,78
03	3,36	43,24	9,62	39,42	7,71	25,07	6,07	47,54
04	1,50	74,66	9,88	37,78	6,07	41,01	5,29	54,28
05	1,79	69,76	10,25	35,45	5,86	43,05	5,64	51,25
06	2,50	57,77	11,50	27,58	9,71	5,64	10,00	13,57
07	2,08	64,86	16,38	-3,15	10,1	1,85	8,71	24,72
08	2,58	56,42	10,50	33,88	8,71	15,35	7,21	37,68
09	1,92	67,57	18,75	-18,07	10,00	2,82	10,64	8,04
10	2,75	53,55	18,44	-16,12	10,93	-6,22	11,00	4,93
11	2,62	55,74	17,75	-11,78	9,43	8,36	8,54	26,19
1B	1,62	72,64	11,50	27,58	8,07	21,57	6,79	41,31
2B	5,08	14,19	17,81	-12,15	10,71	-4,08	10,86	6,14
3B	2,17	63,34	10,12	36,27	8,50	17,40	7,71	33,36
4B	1,20	79,73	8,12	48,87	7,21	29,93	6,21	46,33

3.2 Preparo dos isolados bacterianos para inoculação

Para a multiplicação os isolados bacterianos foram semeadas em meio de cultura Caldo Nutriente a 28 °C em B.O.D., até atingir a concentração de 10^9 unidades formadoras de colônia por mililitros (UFC mL⁻¹), conforme a instrução normativa Nº 13 da Secretaria de Defesa Agropecuária de 24 de março de 2011, estimada através de espectrofotômetro com comprimento de onda de 640 nm, medindo-se a densidade óptica da suspensão bacteriana até atingir 0,530 de absorbância. A seguir, os isolados foram mantidos em geladeira (4°C) até o momento da utilização.

Para o crescimento dos isolados aplicados no experimento em estufa utilizou-se erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultura. Os isolados aplicados no campo foram cultivados em garrafas plásticas transparentes de 500 mL, contendo 500 mL de meio de cultura, até atingir a concentração de 10^9 UFC mL⁻¹. Todos os materiais utilizados em laboratório para o preparo e multiplicação das bactérias, passaram por assepsia prévia, conforme o protocolo descrito na habilitação para Laboratórios de Microbiologia (ANVISA, 2005).

3.3 Experimento conduzido sob estufa plástica modelo túnel alto

A semeadura foi efetuada no dia 19 de dezembro de 2017, em vasos de polietileno (capacidade 8 L), preenchidos com 7,5 Kg de solo retirado da área reservada para o experimento a campo. Foram semeadas três sementes por vaso, previamente tratadas com inoculante comercial Gelfix 5[®] na dose de 2 mL para cada quilo de semente. Os vasos foram mantidos sob estufa plástica, modelo túnel alto, medindo 1,80 m de altura e 4 m de largura, com controle de luminosidade através de lâmpadas de LED de 12 w, acionadas por um temporizador digital.

Diariamente a cobertura plástica era retirada pela manhã e recolocada no fim da tarde, exceto em dias de chuva quando era mantido o dia todo, para permitir a aeração, evitando acúmulo de umidade e alta temperatura dentro da estufa.

A inoculação dos isolados em cada tratamento ocorreu quatorze dias após a semeadura, com as plantas no estágio V1. Realizou-se a aplicação de 1 mL de suspensão bacteriana de cada tratamento na concentração mínima de 10^9 UFC mL⁻¹, utilizando-se um pipetador posicionado no colo da planta. O desbaste foi realizado 24 dias após a semeadura, deixando-se uma planta por vaso.

A irrigação foi feita diariamente com copo medidor, de modo a suprir 60% da capacidade de campo em cada vaso, pois, conforme EMBRAPA (2013) o conteúdo de água no solo para o cultivo de plantas de soja, deve permanecer entre 50 e 85% do total máximo de água disponível.

Os tratos culturais foram efetuados, retirando-se manualmente as plantas indesejáveis e insetos, e realizou-se uma aplicação do inseticida Fastac[®] Duo na dose de 400 mL ha⁻¹ em V6, para o controle de mosca branca (*Bemisia tabaci* Genn.).

Setenta dias após a semeadura quando as plantas estavam no estágio V8, foram efetuadas avaliações das plantas, e retiradas amostras de 400 g do solo de cada vaso, acondicionadas em sacos plásticos e mantidos sob refrigeração (4°C) até o momento das análises químicas e microbiológicas.

Para o desenvolvimento da planta foram avaliadas a altura da parte aérea, com auxílio de uma régua, desde o colo da planta até a inserção do último trifólio, diâmetro do caule, com paquímetro digital a 5 cm do solo, massa fresca e

seca da parte aérea. Para a determinação da massa fresca utilizou-se balança digital. A massa seca foi determinada após acondicionar o material vegetal fresco em embalagens de papel kraft, mantido a 60 °C em estufa com circulação de ar forçada por 72 horas. No sistema radicular foram determinados o volume de raiz (mL) com uma proveta graduada, medindo-se o volume de água deslocado pela raiz e a massa fresca da raiz.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado contendo 16 tratamentos (15 isolados bacterianos e 1 testemunha) com 5 repetições cada, totalizando 80 vasos. A análise estatística foi realizada no software Sisvar (FERREIRA, 2014). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, as médias agrupadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Após a realização do experimento em condições controladas os mesmos isolados foram levados ao campo, visando avaliar o desempenho dos isolados frente às variáveis ambientais.

3.4 Experimento conduzido a campo

A instalação foi efetuada no dia 29 de outubro de 2018, o solo da área de cultivo foi previamente preparado através de aração, gradagem e com a adubação de plantio calculada de acordo com Pauletti; Motta (2017), o que resultou em 200 Kg ha⁻¹ do fertilizante formulado na proporção 0-20-20 para os macronutrientes NPK.

A semeadura ocorreu em parcelas (repetições) medindo 3,0 m de largura e 5,0 m de comprimento, totalizando 15 m² cada. As parcelas foram montadas deixando-se 1 m de espaçamento entre elas, para evitar a sobreposição do efeito de cada tratamento. As sementes foram distribuídas sobre 6 linhas, dentro de cada parcela, perfazendo 11 plantas por metro linear. Com espaçamento de 45 cm entre linhas, sendo avaliadas as plantas presentes nas 4 linhas centrais.

No momento da semeadura as sementes foram tratadas com o inoculante turfoso Brasilec[®], na dose de 60 g do produto para cada 50 Kg de semente.

Após 30 dias da semeadura, quando as plantas estavam em estágio V4 foi realizada a inoculação, utilizando-se garrafas plásticas, contendo 500 mL de meio de cultura com cada isolado bacteriano na concentração mínima de 10⁹ UFC

mL⁻¹, por parcela, distribuídos uniformemente na altura da inserção da planta no solo em todas linhas de cultivo de forma que a mesma quantidade fosse aplicada em cada planta.

A área de cultivo foi inspecionada diariamente efetuando-se capinas sempre que necessário. O inseticida Engéo[®] Pleno S, foi aplicado duas vezes, conforme a necessidade, na dose de 180 mL ha⁻¹, para o controle do percevejo marrom (*Euschistus heros* Fabr.). O fungicida Elatus[®] foi aplicado em três ocasiões, com 20 dias entre as aplicações, na dose de 250 g ha⁻¹, as aplicações foram realizadas utilizando pulverizador agrícola costal a CO₂.

As avaliações iniciaram com a contagem do número de flores por planta, escolhidas aleatoriamente, num total de 10 plantas por parcela. As contagens ocorreram em três ocasiões aos quarenta e nove (R1), setenta (R3) e oitenta e quatro (R5) dias após a semeadura.

Aos setenta dias, com as plantas no estágio R4, foram coletadas três plantas por parcela, para a medição da altura da parte aérea, avaliada com uma régua desde o colo da planta até a inserção do último trifólio, número de nódulos por planta, volume de raiz e massa seca da parte aérea e da raiz. A massa seca foi determinada após acondicionar o material vegetal fresco em embalagens de papel kraft mantidos a 60 °C, em estufa com circulação de ar forçada, por 72 horas. Após esse procedimento a massa seca foi determinada utilizando-se balança digital.

A colheita dos grãos ocorreu cento e trinta e sete dias após a semeadura, sendo retiradas as plantas de dois metros lineares, obtidos de duas linhas por parcela. Na sequência foi realizada a debulha das vagens e a pesagem dos grãos, para estimar a produtividade (kg ha⁻¹) e determinar o peso de 1000 grãos.

Foram realizadas coletas de solo para as análises microbiológicas e químicas, em duas ocasiões, setenta dias após a semeadura quando as plantas estavam no estágio R4 e após a colheita dos grãos. Em cada parcela retirou-se 7 amostras aleatoriamente na camada de 0-10 cm, que foram homogeneizadas, totalizando 400 gramas e mantidas em sacos plásticos sob refrigeração até o momento das análises.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados contendo os 16 tratamentos (15 isolados bacterianos e 1 testemunha) em cada bloco, num total de 5 blocos e 80 parcelas. A análise estatística foi realizada no software Sisvar (FERREIRA, 2014). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, as

médias agrupadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

3.5 Preparo das amostras de solo

As amostras foram passadas em peneira (malha 2 mm), para retirar qualquer resíduo de origem animal ou vegetal. Na sequência, retirou-se 2 g de cada amostra para a determinação da umidade pelo método da estufa à 105 ± 3 °C, permanecendo até atingir peso constante. O cálculo do percentual de umidade foi realizado de acordo com Donagema et al. (2011).

3.6 Análises químicas

Após as amostras serem secas ao ar, realizou-se as determinações conforme Embrapa (1997), pH (CaCl_2), K^+ e P foram realizadas utilizando-se extrator Mehlich-1, com as determinações feitas por fotometria de chama e colorimetria.

Os elementos Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} trocáveis foram extraídos com KCl e analisados por titulometria.

Para a quantificação COT, a matéria orgânica foi oxidada com dicromato de potássio, em meio sulfúrico, e a titulação do carbono foi feita com sulfato ferroso amoniacal.

3.7 Análises microbiológicas do solo

3.7.1 Carbono da biomassa microbiana

O CBM foi avaliada pelo método de fumigação-extração conforme Vance et al. (1987) com 20 g de solo de cada tratamento em duplicata, com e sem fumigação. A fumigação das amostras foi realizada em dessecador, contendo um becker com 50 mL de clorofórmio isento de etanol e pérolas de vidro, permanecendo no vácuo sob pressão de -0,67 atm.

As amostras com e sem fumigação permaneceram no escuro sob temperatura de 25-28 °C por 24 horas. A seguir foi feita a extração do carbono microbiano, através da agitação das amostras, por 30 minutos a 220 rpm e decantação durante 30 minutos, utilizando-se 50 mL de sulfato de potássio (K_2SO_4)

0,5 M como extrator.

A seguir, a amostra foi filtrada e retirou-se 8 mL do sobrenadante e adicionou-se 2 mL de solução 0,066 M de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), 10 mL de ácido sulfúrico P.A (H_2SO_4) e 5 mL de ácido orto-fosfórico (H_3PO_4) 85%.

Após resfriamento da solução, foram adicionados 70 mL de água destilada e o indicador difenilamina ($(C_6H_5)_2NH$) 1%. E a titulação foi realizada com uma solução 0,033 M de sulfato ferroso amoniacal $[(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O]$, sendo que o ponto de viragem foi indicado com a mudança da cor púrpura para verde. A biomassa de cada tratamento é determinada pela diferença do fluxo de carbono entre amostras com e sem fumigação.

3.7.2 Respiração basal do solo

A RB foi determinada conforme Silva et al. (2007), sendo pesadas 50 g da amostra de solo de cada tratamento em recipientes de vidro do tipo Snap Cap (capacidade 100 mL). Em outro Snap Cap adicionou-se 10 mL de NaOH, solução receptora de CO_2 . Os recipientes com a amostra de solo e seu respectivo frasco contendo NaOH foram transferidos para um frasco de vidro de 2 L, hermeticamente fechado, para evitar o fluxo de CO_2 . Todos os recipientes foram mantidos no escuro, sob temperatura entre 25 a 28 °C, por 7 dias.

Após esse período, adicionou-se ao NaOH, 2 mL de solução de cloreto de bário ($BaCl_2$) 10%, para completa precipitação do CO_2 e duas gotas de indicador fenolftaleína, procedeu-se a titulação com ácido clorídrico (HCl) 0,5 M. A mudança de cor ocorreu da coloração rosa para incolor.

3.7.3 Quocientes metabólico e microbiano

O qCO_2 foi obtido pela razão entre RB e o CBM, o $qMIC$ foi obtido pela razão entre o CBM e o COT.

As equações empregadas nos cálculos das características microbiológicas estão descritas no Anexo I.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento conduzido em estufa

Com relação à MFPA e MSPA, todos os isolados apresentaram resultados superiores à testemunha. Na APA, DC, VR e MFR, os isolados na sua maioria apresentaram resultados superiores ou iguais aos da testemunha. Tal fato pode estar ligado à capacidade dos isolados de produzir AIA, que variou de 8,56 a 31,33 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (PAULA, 2018). Os isolados 01, 02, 03, 05, 09 e 2B apresentaram médias estatisticamente superiores em todos os parâmetros analisados (Tabela 4).

O efeito benéfico da inoculação pode estar associado a produção de fitoestimuladores como o AIA (FERLINI, 2006), que participa da alongação, divisão e diferenciação celular, influenciando o desenvolvimento de raízes, através do aumento do comprimento e do número de pelos radiculares, aumentando a superfície de contato, absorção de água e nutrientes do solo (PATTEN; GLICK, 2002; MARCHIORO, 2005; BAIS et al. 2006).

Contudo, a biossíntese de AIA por bactérias pode estimular, inibir ou não exercer efeito sobre o crescimento vegetal, os efeitos contrastantes do AIA variam em função da quantidade disponível para a planta e a sensibilidade do hospedeiro (SPAEPEN et al., 2007). Estudos com milho (PEDRINHO et al. 2010) e soja (ASSUMPÇÃO et al. 2009) demonstram incrementos significativos sobre o crescimento destas plantas. Entretanto outros não observaram uma correspondência entre a síntese de AIA por bactérias com o desenvolvimento das plantas de soja (LI et al., 2008). Concluindo que o AIA bacteriano atua no estabelecimento (REMANS et al., 2008) e na eficiência da simbiose no processo de nodulação de plantas de feijão (SPAEPEN et al., 2007).

A inoculação em leguminosas demonstra a interação de vários fatores envolvidos nessa interação, podendo tanto estimular como inibir a nodulação e o crescimento vegetal, dependendo da interação entre os simbiossiontes e as estirpes inoculadas (CAMACHO et al. 2001).

Tabela 4. Características agronômicas de plantas de soja no estágio V8 em cultivo protegido após inoculação com isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.

Isolados	APA (m)	MFPA (g)	MSPA (g)	DC (mm)	VR (mL)	MFR (g)
T ¹	0,8 c	45,1 c	26,3 d	8,6 b	34,0 c	24,9 c
01	1,0 a	77,7 a	38,0 a	11,2 a	54,8 a	39,0 a
02	1,1 a	85,5 a	38,0 a	10,6 a	57,5 a	41,7 a
03	1,1 a	84,7 a	37,6 a	10,9 a	52,8 a	40,0 a
04	1,0 a	80,1 a	36,5 b	10,5 a	47,0 b	37,4 b
05	1,0 a	78,6 a	38,1 a	10,6 a	50,0 a	38,3 a
06	1,1 a	74,5 a	36,4 b	9,6 b	41,3 b	32,7 b
07	1,0 a	64,0 b	31,2 b	10,6 a	38,50 c	28,5 c
08	1,1 a	76,9 a	37,2 a	9,9 b	43,8 b	35,3 b
09	1,1 a	75,5 a	37,8 a	10,4 a	57,8 a	43,0 a
10	1,1 a	79,8 a	38,0 a	11,2 a	42,3 b	32,5 b
11	1,0 a	81,5 a	37,7 a	11,2 a	46,0 b	31,1 b
1B	0,9 b	73,9 a	37,2 a	11,6 a	47,8 b	36,9 b
2B	1,0 a	76,7 a	38,3 a	11,3 a	57,5 a	43,0 a
3B	1,0 b	69,4 a	34,8 b	9,8 b	47,5 b	37,1 b
4B	0,8 c	55,9 b	32,0 c	10,0 b	45,0 b	33,7 b
CV%	7,1**	8,3**	5,4**	7,4**	19,7**	18,0**

APA = Altura da Parte Aérea, MFPA = Massa Fresca de Parte Aérea; MSPA = Massa Seca de Parte Aérea, DC = Diâmetro do Caule, VR = Volume de Raiz e MFR = Massa Fresca da Raiz. *Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott knott a 5%. CV = coeficiente de variação; ** = significativo a 1%, ¹T = Testemunha.

Cinco isolados bacterianos nos parâmetros biológicos, diferiram em relação à testemunha (Tabela 5). Na avaliação do CBM, os isolados 01, 02, 05, 09 e 2B apresentaram médias superiores às da testemunha (Tabela 5). E os isolados 01 e 02 foram estatisticamente superiores aos isolados 05, 09 e 2B (Tabela 5).

O CBM compõe a matéria orgânica, representando a fração viva, variando de 2% a 5% do C orgânico do solo (DE LUCA, 1998). Sendo considerado eficiente indicador das alterações do estado da matéria orgânica, detectando seu aumento ou decréscimo (TÓTOLA; CHAER 2002). A quantidade de microrganismos no solo está relacionada com a quantidade e a qualidade da matéria orgânica. Quanto maior a incorporação de carbono aos tecidos microbianos, maior a eficiência da biomassa microbiana na utilização de compostos orgânicos (MERCANTE, 2004).

A inoculação dos isolados 01, 02, 05, 09 e 2B também influenciou positivamente na respiração basal (RB), quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) e quociente microbiano ($q\text{MIC}$) (Tabela 5). Entretanto, a inoculação dos isolados 01 e 02 foi a que apresentaram os melhores resultados nos parâmetros avaliados.

Manejes que promovam menores valores de $q\text{CO}_2$ são desejáveis pois, refletem menores perdas de carbono pela respiração e consequente incorporação de carbono à BMS. Quando tal correspondência é estabelecida,

significa que a comunidade microbiana encontrou condições de ambiente que lhe permite realizar suas atividades metabólicas de maneira equilibrada (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O $qMIC$ é um parâmetro que pode ser utilizado como indicador da ocorrência de C no solo (BALOTA et al., 1998), assim com a inoculação dos isolados 01 e 02 pode-se inferir que foi possível obter maior eficiência no acúmulo de carbono na biomassa microbiana, em função das médias significativamente maiores, seguidas das médias dos isolados 03, 05, 09 e 2B (Tabela 5). Para Alves et al. (2011), quando se inclui o $qMIC$ nas análises sobre os parâmetros microbiológicos do solo, é possível obter informações precisas e adequadas para o entendimento da atividade dos microrganismos do solo.

Jakelaitis et al. (2008), consideraram valores de $qMIC$ superiores a 1%, como sendo indícios de que a atividade microbiana no solo, ocorreu de maneira satisfatória sem a interferência de fatores estressantes. Neste sentido, para os valores do $qMIC$ verificados na Tabela 5, destacam-se os isolados 01 e 02 como sendo os de melhor capacidade de adaptação, incluindo a eficiência de atividades metabólicas e microbianas.

A inoculação com os isolados 04, 10 e 11 demonstrou os menores desempenhos, pelas médias estatisticamente superiores de RB e qCO_2 (Tabela 5). Segundo Jakelaitis et al. (2008), o maior valor do qCO_2 reflete a suscetibilidade desses isolados, a condição ambiental, que provavelmente originou algum fator de estresse sobre tais comunidades microbianas. Para Odum (1985), isto ocorre porque, sobreviver em um ambiente com algum fator estressante, requer desvio de energia do crescimento e reprodução para a manutenção celular, ocasionando perda do carbono da biomassa como CO_2 .

Com relação aos parâmetros químicos do solo no florescimento das plantas, foi possível observar redução dos teores de P, K^+ e Ca^{2+} dos tratamentos em comparação à análise inicial do solo, pela extração desses nutrientes para o desenvolvimento das plantas e manutenção da microbiota do solo (Tabela 6).

As plantas necessitam de determinadas concentrações de macro e micronutrientes para realizar seu ciclo de vida, a absorção de nutrientes diz respeito à quantidade de determinado nutriente que a planta necessita, a concentração de nutriente extraído expressa a quantidade de nutriente que é exportada pelo produto colhido e a que permanece nos restos vegetais após a colheita (FILIPPI; TIECHER,

2019).

Tabela 5. Atributos microbiológicos do solo cultivado com soja no estágio V8 em cultivo protegido após a inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.

Isolados	CBM mg kg ⁻¹	RB mg C-CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹	qCO ₂ mg kg ⁻¹ h ⁻¹ de C-CO ₂ do CBM	qMIC (%)
T ¹	62,7 c	0,4 c	6,6 d	0,5 c
01	99,7 a	0,6 c	5,7 d	0,9 a
02	104,8 a	0,2 d	2,2 e	0,9 a
03	67,1 c	0,6 c	6,9 d	0,6 b
04	38,8 d	0,9 a	22,2 a	0,3 d
05	81,6 b	0,6 c	6,8 d	0,7 b
06	45,9 d	0,7 b	11,7 c	0,4 d
07	51,7 c	0,5 c	9,6 c	0,4 c
08	39,5 d	0,7 b	16,5 b	0,4 d
09	79,0 b	0,6 c	7,8 d	0,6 b
10	45,6 d	0,9 a	19,9 a	0,4 d
11	39,6 d	0,8 a	20,4 a	0,3 d
1B	36,5 d	0,6 c	15,2 b	0,3 d
2B	75,4 b	0,4 c	5,5 d	0,6 b
3B	56,7 c	0,4 c	6,4 d	0,5 c
4B	41,5 d	0,3 d	7,5 d	0,3 d
CV%	15,0**	18,3**	20,0**	16,7**

CBM = Carbono da Biomassa Microbiana; qMIC = Quociente microbiano; RB = Respiração basal; qCO₂ = Quociente metabólico. *Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott a 5%. CV= coeficiente de variação; **= significativo a 1%; ¹T = Testemunha.

Os teores de COT e P não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos, no K⁺ foi possível observar redução dos teores do elemento com relação a testemunha, exceto nos isolados 03, 3B e 4B que não diferiram da testemunha, com relação ao Ca²⁺, todos os isolados exceto 10, 3B e 4B reduziram a quantidade do elemento no solo, os isolados 08, 09, 10, 11, 1B, 2B, 3B e 4B também reduziram a quantidade de magnésio no solo (Tabela 5), os microrganismos constituem grande e dinâmica fonte e depósito de nutrientes, participam ativamente no processo de solubilização de nutrientes para as plantas afetando diretamente o crescimento vegetal (KENNEDY; SMITH, 1995), possibilitando maior extração dos nutrientes do solo pelas plantas, a redução da quantidade das bases do solo (Ca²⁺ e Mg²⁺) pode explicar a redução do pH do solo na maioria dos tratamentos (Tabela 6), além da exsudação de ácidos orgânicos pelas plantas.

Observou-se também, aumento dos teores de alumínio do solo para os isolados 01 e 02 (Tabela 6), segundo Braga (2012), o alumínio na solução do solo quando absorvido pelas plantas, causa prejuízos ao desenvolvimento do sistema radicular, quando ultrapassa as porcentagens toleradas na CTC efetiva do solo,

quando a porcentagem de saturação por alumínio ultrapassa 20% é considerada tóxica, no entanto para este experimento os maiores teores de alumínio observados não ultrapassaram 4,3% na CTC efetiva do solo, portanto, não sendo prejudiciais à cultura implantada.

Tabela 6. Análise química do solo em pré-plantio (PP) e ao final do cultivo da soja em cultivo protegido após a inoculação com isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.

Isolados	COT g kg ⁻¹	pH CaCl ₂	P mg dm ³	K ⁺cmolc dm ³	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ²⁺	CTC
PP	12,7 a	4,8 a	17,8 a	0,6 a	5,9 a	1,9 b	0,2 a	14,7 a
T	13,2 a	4,9 a	7,7 b	0,3 b	5,4 b	2,7 a	0,0 b	13,3 a
01	11,7 a	4,4 b	8,3 b	0,1 c	4,2 d	2,7 a	0,3 a	13,7 a
02	11,4 a	4,4 b	6,8 b	0,1 c	4,2 d	2,4 a	0,2 a	13,5 a
03	11,4 a	4,6 b	9,3 b	0,3 b	4,2 d	2,5 a	0,0 b	13,7 a
04	12,2 a	4,5 b	8,2 b	0,1 c	4,1 d	2,6 a	0,0 b	13,5 a
05	12,5 a	4,4 b	7,9 b	0,1 c	3,8 d	2,9 a	0,0 b	13,3 a
06	11,9 a	4,4 b	7,9 b	0,1 c	3,6 d	3,0 a	0,0 b	13,3 a
07	12,2 a	4,5 b	10,9 b	0,1 c	4,0 d	2,7 a	0,0 b	13,3 a
08	11,4 a	4,5 b	7,1 b	0,1 c	4,7 c	2,0 b	0,0 b	12,9 a
09	10,9 a	4,5 b	6,9 b	0,1 c	4,7 c	1,9 b	0,0 b	12,9 a
10	11,4 a	4,5 b	8,0 b	0,1 c	5,1 b	2,3 b	0,1 b	14,2 a
11	12,2 a	4,5 b	7,8 b	0,1 c	4,6 c	1,9 b	0,0 b	13,2 a
1B	13,2 a	4,5 b	9,5 b	0,1 c	4,8 c	1,9 b	0,0 b	13,3 a
2B	12,5 a	4,5 b	9,1 b	0,2 c	4,7 c	1,9 b	0,0 b	13,2 a
3B	12,2 a	4,8 a	8,6 b	0,3 b	6,2 a	2,1 b	0,0 b	14,0 a
4B	13,2 a	4,8 a	7,6 b	0,3 b	5,2 b	2,2 b	0,1 b	12,7 a
Cv (%)	8,1 ^{n.s}	2,3**	22,6 ^{n.s}	21,0*	9,2**	12,5**	30,3**	3,9*

Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott knott a 5%. CV = coeficiente de variação; ^{n.s} = não significativo; ** = significativo a 1%; ¹T = Testemunha.

4.2 Experimento à campo

A inoculação dos isolados bacterianos influenciou significativamente, as características agronômicas das plantas avaliadas no estágio reprodutivo R4 (Tabela 6). O NOD e o VR foram as características com maior variação. Os isolados 01, 02, 05 e 09 apresentaram médias significativamente superiores, em todas as características avaliadas. Os isolados 03, 06, 08, 4B e a testemunha obtiveram médias inferiores aos isolados de melhor desempenho, somente em um dos parâmetros avaliados, o isolado 03 com menor média na avaliação da APA, os outros três isolados diferiram em relação ao número de nódulos. Na avaliação do número de nódulos, as médias variaram entre 48,13 (isolado 01) a 24,33 (isolado

10), sendo este parâmetro diretamente relacionado com a fixação biológica do nitrogênio (Tabela 7).

Paula (2018) caracterizou que os isolados 02, 06, 08 e 4B apresentaram capacidade de fixar nitrogênio atmosférico (Tabela 1). Dentre estes, o isolado 02 produziu nódulos em quantidade significativamente maior que a testemunha, inoculada apenas com o produto comercial (Tabela 7), porém, ainda que os isolados 01, 05 e 09 que obtiveram médias de características agrônômicas significativamente maiores que os demais, não tenham apresentado capacidade de FBN, eles proporcionaram número de nódulos acima da testemunha, indicando que houve uma boa adaptação, entre os isolados inoculados no campo e o produto comercial utilizado no tratamento das sementes, por ocasião da semeadura.

As BPCP diazotróficas podem incrementar a nodulação de plantas inoculadas com bactérias simbióticas, por estimular a indução da produção de genes relacionados à formação de nódulos, aumento de raízes laterais, da densidade e ramificações de pelos radiculares (BÁRBARO et al. 2008).

A inoculação de leguminosas com combinações de diferentes microrganismos são capazes de produzirem efeitos sinérgicos. Os resultados se traduzem na potencialização da nodulação e maior crescimento (BÁRBARO et al., 2011). Tal fato também pode estar relacionados a capacidade das rizobactérias produzirem AIA e aumentar a eficiência de nodulação (SPAEPEN et al., 2007).

Neste sentido, a combinação utilizada no presente estudo, no caso *Bradyrhizobium* (produto comercial) e os isolados proporcionou uma interação positiva com a maioria dos isolados, gerando aumento na nodulação, com destaque para os isolados 01, 02, 03, 04, 05 e 09, o que acarretou em médias significativamente maiores que as da testemunha e mesmo entre as que não diferiram estatisticamente, apenas dois isolados 07 e 10 foram numericamente inferiores à testemunha (Tabela 7).

O número de nódulos produzidos por plantas de soja, encontrado na literatura é influenciado pela cultivar, metodologia utilizada na inoculação, condições climáticas durante o cultivo. Bohrer; Hungria (1998) avaliaram 152 cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio, inoculadas com três estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* e a menor média verificada foi de 22 nódulos por planta. No presente estudo a menor média obtida (24,33) foi satisfatória, pois, de acordo com Hungria (2011), plantas de soja cultivadas no campo, para serem consideradas bem

noduladas devem apresentar entre 15 e 30 nódulos. Deste modo, pode-se inferir que a inoculação dos isolados não restringiu a nodulação nem interferiu negativamente na capacidade simbiótica das plantas de soja.

Tabela 7. Características agronômicas de plantas de soja no estágio reprodutivo R4, sob cultivo a campo com inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.

Isolados	APA (m)	NOD	VR (mL)	MSPA (g)	MSR (g)
T ¹	1,29 a	29,83 b	10,23 a	34,98 a	3,78 a
01	1,24 a	48,13 a	9,67 a	31,82 a	2,94 a
02	1,26 a	41,96 a	9,83 a	31,40 a	3,91 a
03	1,20 b	36,06 a	10,71 a	32,49 a	3,66 a
04	1,31 a	36,87 a	7,88 b	27,75 b	3,09 a
05	1,28 a	40,96 a	11,70 a	33,06 a	3,90 a
06	1,26 a	32,50 b	10,33 a	35,88 a	3,55 a
07	1,26 a	26,80 b	9,33 b	27,79 b	2,97 a
08	1,27 a	32,13 b	10,29 a	32,72 a	3,50 a
09	1,26 a	38,33 a	10,03 a	33,51 a	3,83 a
10	1,24 a	24,33 b	8,92 b	39,18 a	3,45 a
11	1,22 b	31,54 b	9,25 b	24,32 b	3,09 a
1B	1,21 b	33,83 b	10,29 a	31,56 a	3,77 a
2B	1,25 a	31,73 b	8,57 b	33,90 a	3,30 a
3B	1,26 a	30,40 b	9,10 b	34,60 a	3,64 a
4B	1,30 a	31,92 b	10,23 a	33,47 a	3,64 a
CV%	4,2*	20,1**	12,8**	11,7**	20,0 n.s

APA = Altura da Parte Aérea; NOD = Número de nódulos; VR = Volume de Raiz; MSPA = Massa seca da parte aérea; MSR = Massa da seca da raiz. *Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5%. CV = coeficiente de variação; n.s = não significativo; ** = significativo a 1%; * = significativo a 5%; ¹T = Testemunha.

Para a característica MSPA verificou-se médias significativamente menores, em relação à testemunha, somente nos isolados 04, 07 e 11 (Tabela 7). Bohrer; Hungria (1998) consideram a MSPA como um parâmetro adequado para ser utilizado na seleção de estirpes simbióticas promissoras com plantas de soja, na ausência de N mineral. Souza et al. (2008), que realizaram a avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja, em diferentes localidades e épocas, recomendaram a análise dos dados referentes aos nódulos e a parte aérea para avaliar o crescimento e o desempenho simbiótico da soja.

Entretanto, assim como no presente estudo, Bárbaro et al. (2011), não encontraram diferenças nos tratamentos e entre as cultivares de soja em relação às massas das matérias secas de raízes e da parte aérea. Estes autores sugerem que se utilize a avaliação de caracteres de produção, como a produtividade

e peso de sementes para possível confirmação da eficiência, ou não, da atuação das bactérias nas cultivares de soja.

As médias do número de inflorescências variaram conforme o estágio em que a contagem foi realizada (Tabela 8), apenas os isolados 04, 09 e 2B mantiveram médias significativamente maiores que os demais tratamentos, nas três épocas de avaliação. Entretanto, das três, somente no isolado 09 apresentou uma elevada produtividade. O isolado 01, mesmo sem demonstrar médias significativamente maiores, nas duas primeiras avaliações, apresentou a menor média de abortamento de inflorescências entre a segunda e a terceira avaliação, responsável por ocupar um lugar entre as quatro maiores médias de produtividade.

O florescimento e desenvolvimento de vagens em plantas de soja ocorrem entre R1 e R4 respectivamente. Na avaliação do número de inflorescências em R1 (Tabela 8) o maior número de estruturas foi observado no isolado 2B (31,86) e o menor 1B (18,96). Em R3 o isolado 4B obteve a maior média numérica (96,17) e a testemunha apresentou a menor média (69,33). Em R5 o isolado 3B obteve a maior média numérica (73,68) e o isolado 11 apresentou a menor média (58,91). A produção final das plantas de soja está diretamente relacionada com o número de flores, a porcentagem de aborto e a queda das estruturas reprodutivas (JIANG; EGLI, 1993).

O número de vagens produzidas pelas plantas de soja é relativamente pequeno em comparação com o número de flores (NAVARRO JUNIOR; COSTA, 2002).

Neste trabalho, durante os estádios reprodutivos R5 e R6, onde ocorrem o desenvolvimento e enchimento dos grãos, houve um estresse hídrico (Figura 2), obtendo-se valores de precipitação inferiores aos 7 a 8 mm/dia requisitados pelas plantas de soja nestes estádios (ALMEIDA; SANT'ANNA NETO, 2007).

Esta condição possivelmente fez com que a maioria das plantas tivesse um rendimento menor do que o esperado, em função do número de estruturas reprodutivas observadas (Tabela 8). As plantas cultivadas com a inoculação do isolado 01 apresentaram menor redução do número de estruturas reprodutivas de R3 para R5 em média apenas 2,3 estruturas a menos. O isolado 4B diminuiu em 30,4 o número de estruturas reprodutivas, sendo o de maior perda. Estes resultados permitem inferir que os isolados bacterianos analisados,

propiciaram condições para que as plantas de soja tivessem um bom desempenho produtivo, mesmo sob a condição de pluviosidade imposta pelo ambiente.

A seca durante o estágio R5 e início do R6 pode reduzir drasticamente o rendimento. A disponibilidade de água se torna crucial, porque cerca da metade dos nutrientes necessários para o enchimento de grãos, vem da translocação de outras partes da planta, mas a outra metade vem do solo e da FBN (FEHR; CAVINES 1977).

Para que ocorra a absorção de nutrientes do solo pelas raízes e a FBN, o solo necessita estar úmido. No Brasil, particularmente nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Mato Grosso, o rendimento da soja está correlacionado e dependente da precipitação (ALMEIDA; SANT'ANNA NETO 2007).

Estresse hídrico significativo neste período leva a alterações fisiológicas na planta, como o fechamento dos estômatos, enrolamento das folhas, atividade enzimática, dificuldade de absorção de água, nitrogênio com consequente queda prematura de flores e abortamento de folhas e vagens, o que leva a uma redução rendimento de grãos (CARMELLO; SANT'ANNA NETO, 2016). Estiagens nos meses de janeiro a março são frequentes no estado do Paraná e geralmente coincidem com o período crítico da floração e enchimento de grãos. Esse período tem sido apontado como fator limitante ao rendimento da soja (MATZENAUER et al. 2003).

A inoculação com os isolados utilizados no presente estudo proporcionou condições, para que as plantas de soja pudessem se adaptar e de alguma forma tolerar a condição de estresse hídrico, sustentando uma produção satisfatória, que em 14 dos 15 isolados (Tabela 8 e Figura 3) foi superior à média nacional de 3382 kg/ha obtida na safra 17/18 (CONAB, 2018). Os isolados 01, 02, 08 e 09 possibilitaram médias de rendimento estatisticamente maiores que a testemunha inoculada com o *Bradyrhizobium* (produto comercial), em outros sete isolados as médias foram numericamente acima a da testemunha (Tabela 8). Somente a produtividade obtida no isolado 03 ficou abaixo da testemunha e da média nacional.

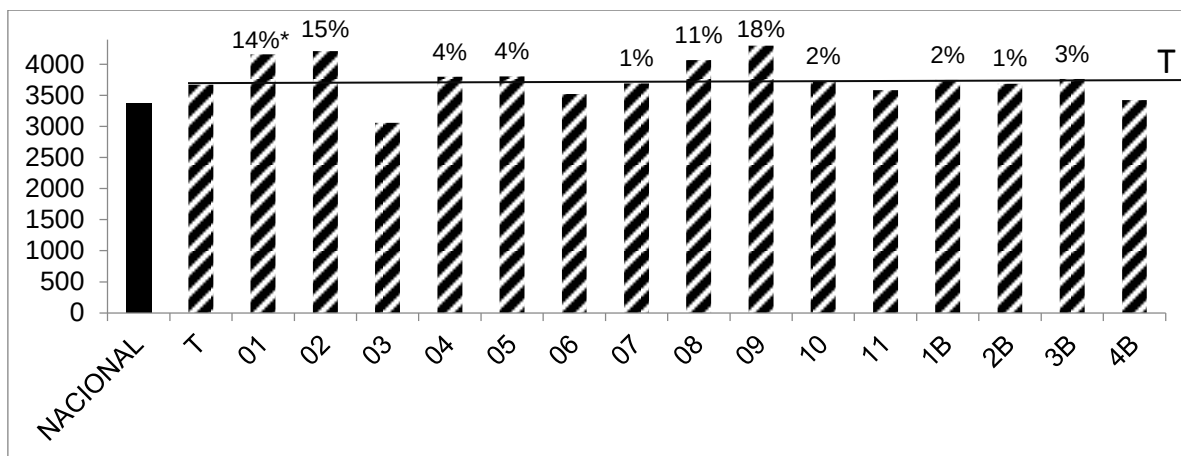


Figura 3. Avaliação da produtividade (Kg ha^{-1}) após inoculação de quinze isolados bacterianos durante o cultivo de plantas de soja em campo. Bandeirantes, PR. 2019. Nacional = média nacional (17/18); T = Testemunha; * = incremento de produtividade em relação à testemunha em %.

A capacidade das BPCP em melhorar o desempenho de plantas sob condições de estresse e consequentemente, aumentar a produtividade das culturas foi relatada por Santos et al. (2014). Esta capacidade pode ser justificada, segundo Dimkpa et al. (2009), porque as bactérias podem produzir substâncias osmorreguladoras pela planta, intermediar mudanças na elasticidade das paredes das células radiculares e aumentar a superfície de absorção de água colaborando na tolerância à seca. Para Yang et al. (2009), a produção do ácido indol acético, aumenta o comprimento das raízes, ocasionando uma maior absorção de nutrientes do solo.

Kasim et al. (2013), mencionaram que as BPCP pode aumentar a produção de genes relacionados com o estresse hídrico e consequentemente, promover tolerância às condições de estresse. Shi et al. (2010) utilizaram tratamento com bactérias endofíticas e verificaram maior eficiência fotossintética, conteúdo de clorofila e aumento no teor de carboidratos. Além disso, as Bactérias também podem auxiliar na recuperação após o estresse hídrico, mesmo não evitando perda de água durante o estresse, podendo fazer com que os níveis de água na célula retornem rapidamente ao normal (MAYAK et al., 2004).

A análise dos parâmetros microbiológicos do solo, tem sido utilizada nos estudos sobre a importância dos microrganismos para a FBN e nutrição das leguminosas. De acordo com Franchini et al. (2007), estes indicadores têm conquistado espaço entre as análises do solo, por apresentarem maior sensibilidade às alterações ambientais, em comparação com os parâmetros químicos e físicos,

podendo demonstrar em menor tempo, alterações em função do tipo de manejo e condução de lavouras.

Tabela 8. Número de inflorescências durante os estádios reprodutivos R1, R3 e R5, produtividade (Prod) e peso de 1000 grãos (P1000) obtidos a partir de plantas de soja cultivadas a campo com inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.

Isolados	Inflorescências			P1000	Prod
	R1	R3	R5		
T ¹	28,42 a	69,33 b	60,79 b	144 a	3672 b
01	24,25 b	72,40 b	70,12 a	140 a	4163 a
02	25,36 b	84,26 a	67,60 a	148 a	4215 a
03	25,90 b	84,76 a	60,53 b	145 a	3060 b
04	27,07 a	88,47 a	66,29 a	140 a	3798 b
05	26,00 b	81,89 b	63,89 b	146 a	3806 b
06	30,62 a	87,67 a	61,24 b	146 a	3521 b
07	22,52 c	76,87 b	65,01 a	140 a	3690 b
08	30,54 a	76,51 b	62,72 b	143 a	4068 a
09	29,93 a	87,07 a	70,71 a	146 a	4302 a
10	28,18 a	74,65 b	68,52 a	142 a	3736 b
11	25,51 b	80,23 b	58,91 b	146 a	3583 b
1B	18,96 c	89,78 a	71,01 a	145 a	3748 b
2B	31,86 a	91,00 a	66,26 a	144 a	3690 b
3B	27,28 a	77,73 b	73,68 a	145 a	3764 b
4B	26,65 b	96,17 a	55,80 b	151 a	3426 b
CV%	13,0**	14,7*	12,4*	4,7 n.s	10,1*

Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5%. CV=coeficiente de variação; n.s=não significativo; **=significativo a 1%; *=significativo a 5%; ¹T=Testemunha.

A análise dos parâmetros microbiológicos no pré-plantio apresentou os melhores desempenhos (Tabela 9), provavelmente porque os microrganismos estavam em um ambiente em repouso com menor gasto energético. Após o preparo convencional da área houve a incorporação de restos culturais e aeração do solo.

Segundo Perez et al. (2004), o revolvimento e mobilização do solo, durante o preparo convencional provoca uma maior aeração e incorporação de resíduos orgânicos, o que a princípio eleva a atividade microbiana e aumenta o consumo de energia, reduzindo o CBM. Além disso, após a semeadura e a inoculação dos isolados em V4, devido à demanda de nitrogênio pelas plantas, provavelmente houve uma pressão de seleção por microrganismos eficientes no uso de fontes de C e fixação de N.

As médias do CBM, RB, qCO_2 e $qMIC$, foram significativamente menores em relação ao pré-plantio, nas duas épocas de avaliação (Tabela 9). Na comparação entre os tratamentos, os isolados 08 e 09 (em R4) e 02 (em PC)

apresentaram maior CBM. Nas médias de RB na avaliação os isolados 07, 08, 09 e 10 (em R4) e a 01 (em PC) obtiveram melhores desempenhos. A inoculação dos isolados 07, 08, 09 apresentou menor $q\text{CO}_2$ (em R4) e a bactéria 01 (em PC). Com relação ao $q\text{MIC}$ as bactérias 02, 06, 07, 08, 09 e 11 (em R4) e 01 e 02 (em PC) demonstraram maior eficiência.

Souza et al. (2008), consideraram que o CBM e a RB, são parâmetros microbiológicos com menor variabilidade, devendo compor o conjunto mínimo de parâmetros para uso em larga escala, na avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. De acordo com Braga et al. (2016), quanto menor a RB, menor é o gasto de energia e maior a eficiência dos microrganismos do solo. Para Souza et al. (2006), os menores valores de $q\text{CO}_2$ são encontrados em condições ambientais adequadas, nas quais a biomassa microbiana consome menor quantidade de carbono, para sua manutenção. Nas condições do experimento a campo, os isolados apresentaram valores de $q\text{CO}_2$ variando entre 1,68 a 8,28 $\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Tabela 9. Atributos microbiológicos do solo com cultivo de soja, em pré-plantio (PP), no estágio reprodutivo R4 (com vagens desenvolvidas) e em pós colheita (PC) com inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.

Isol.	CBM mg kg^{-1}		RB $\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$		$q\text{CO}_2$ $\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de C-CO ₂ do CBM		$q\text{MIC}$ (%)	
	R4	PC	R4	PC	R4	PC	R4	PC
PP	361,74 a	361,74 a	0,40 e	0,40 e	1,12 f	1,12 f	2,78 a	2,78 a
T ¹	249,81 d	231,38 d	1,37 a	1,58 b	5,52 b	6,88 b	1,43 c	1,34 c
01	260,83 c	286,35 c	0,94 b	0,48 e	5,17 b	1,68 f	1,14 d	2,12 b
02	272,57 c	324,92 b	0,70 c	1,01 d	2,57 e	3,11 e	1,63 b	1,90 b
03	217,02 e	229,39 d	0,81 b	1,30 c	3,77 b	5,72 c	1,34 d	1,36 c
04	262,11 c	234,95 d	0,88 b	1,31 c	3,38 e	5,62 c	1,55 c	1,42 c
05	236,91 d	230,40 d	0,98 b	1,15 d	4,14 d	4,97 d	1,55 c	1,32 c
06	274,38 c	234,86 d	0,82 b	1,03 d	2,80 e	5,87 c	1,86 b	1,00 d
07	276,99 c	218,51 d	0,47 e	1,07 d	1,69 f	4,90 d	1,80 b	1,42 c
08	315,37 b	239,66 d	0,58 d	1,05 d	1,85 f	4,39 d	1,72 b	1,32 c
09	313,64 b	270,83 c	0,58 d	1,34 c	1,83 f	4,93 d	1,97 b	1,62 c
10	237,57 d	200,23 d	0,60 d	1,50 b	2,54 e	8,28 a	1,42 c	1,07 d
11	274,63 c	221,89 d	0,74 c	1,50 b	2,67 e	6,76 b	1,70 b	1,40 c
1B	251,08 d	233,15 d	0,67 c	1,30 c	2,66 e	5,66 c	1,49 c	1,41 c
2B	260,17 c	259,97 c	1,20 a	1,76 a	4,65 c	6,76 b	1,48 c	1,52 c
3B	249,18 d	233,53 d	1,30 a	1,60 b	5,21 b	6,87 b	1,47 c	1,44 c
4B	208,93 e	222,06 d	1,25 a	1,50 b	6,02 a	5,74 c	1,23 d	1,58 c
CV%	8,8**	7,15**	12,9**	9,9**	15,1**	11,4**	15,4**	13,1**

CBM=Carbono da Biomassa Microbiana; $q\text{MIC}$ =Quociente microbiano; RB=Respiração basal; $q\text{CO}_2$ =Quociente metabólico; ¹T=Testemunha. Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5%; PP=pré plantio; CV=coeficiente de variação; **=significativo a 1%.

O comportamento das bactérias 01, 02, 08 e 09, demonstra aumento do CBM, do $qMIC$, e redução nas médias de RB e qCO_2 nas duas épocas de avaliação, demonstra melhor desempenho nos parâmetros biológicos.

Houve variação das características químicas do solo do pré-plantio, em relação às medições realizadas no estágio fenológico R4, onde as vagens estão completamente desenvolvidas, para o COT, pH e P (Tabela 10). Em pós colheita as diferenças significativas foram observadas em COT, Mg^{2+} e Al^{3+} . Os nutrientes K^+ e Ca^{2+} variaram nas duas épocas de coleta. O COT aumentou significativamente em relação ao pré plantio tanto em R4 quanto em PC, no solo das parcelas onde as plantas foram inoculadas com os isolados 02, 04, 08, 10, 1B, 2B, 3B e 4B que não diferiram da testemunha, em ambas épocas de coleta.

A acidez do solo não aumentou significativamente apenas nos isolados 04, 06, 07, 09, 10, 1B, 3B e 4B (em R4). O K^+ e o Ca^{2+} diminuíram significativamente em relação ao pré plantio em todas os tratamentos, tanto em R4 quanto em PC. Os elementos Mg^{2+} e Al^{3+} não diferiram em R4 e em PC. O isolado 08 obteve a maior média de Mg^{2+} em PC, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Para Al^{3+} os isolados 05, 08, 09 e 2B reduziram os teores em comparação com as demais, não diferindo, porém, da análise em pré plantio (Tabela 10). O P em R4 foi menor nos isolados 04, 06, 07, 09, 10, 1B, 3B, 4B e testemunha em relação a análise em pré plantio, porém não houve diferença estatística em PC.

Estes resultados comprova a atuação dos isolados analisados sobre as propriedades químicas do solo. Conforme Silva; Mendonça (2007), o processo de decomposição que os microrganismos do solo realizam é fundamental, na liberação dos macros e micronutrientes constituintes dos compostos orgânicos. Os nutrientes liberados por esse processo podem ser imobilizados pelos microrganismos e utilizados na formação de novos compostos, ou mineralizados e liberados na solução do solo. Para Moreira; Siqueira (2006), a biomassa microbiana é considerada a fração viva da matéria orgânica e possui função chave em diversos processos importantes no solo como a decomposição, mineralização e ciclagem de nutrientes, além de ser um reservatório de N, P e energia facilmente disponível.

Conforme Bottomley (2005) a dinâmica dos nutrientes no solo é influenciada pela atividade microbiana, que promove a decomposição da matéria orgânica (mineralização) e solubilização de nutrientes contidos na fase sólida do solo, com destaque para o P.

Os tratamentos avaliados promoveram um aumento significativo nas médias do COT, em relação ao pré plantio (Tabela 10), nas duas épocas de determinação (exceto para o isolado 01 em PC). Segundo Rossi et al. (2012), o incremento de C possivelmente está relacionado às frações aportadas de matéria orgânica, principalmente a matéria orgânica particulada, que está relacionada ao material recentemente adicionado ao solo.

Tabela 10. Análise química do solo, durante o estágio reprodutivo R4 (com vagens desenvolvidas) e em pós colheita (PC) com inoculação de isolados bacterianos. UENP/CLM, Bandeirantes, PR. 2019.

Isolados	C.O.T g kg ⁻¹		pH CaCl ₂		P mg dm ⁻³		K ⁺		Ca ²⁺		Mg ²⁺ .cmolc dm ⁻³ .		Al ³⁺		CTC	
	R4	PC	R4	PC	R4	PC	R4	PC	R4	PC	R4	PC	R4	PC	R4	PC
PP	12,7 c	12,7 b	4,8 a	4,8 a	17,8 b	17,8 a	0,6 a	0,6 a	5,9 a	5,9 a	1,9 a	1,9 c	0,2 a	0,2 b	14,7 a	14,7 a
T ¹	17,6 a	17,3 a	4,4 b	4,8 a	20,4 a	15,9 a	0,3 b	0,2 c	4,2 b	4,9 b	1,9 a	2,0 b	0,3 a	0,5 a	13,4 a	11,6 c
01	15,4 b	13,7 b	4,7 a	4,7 a	21,0 a	17,9 a	0,3 b	0,2 c	3,5 c	4,4 c	2,0 a	1,7 c	0,2 a	0,5 a	12,8 a	11,1 c
02	17,7 a	17,3 a	4,8 a	4,9 a	19,2 a	14,9 a	0,3 c	0,3 b	4,2 b	5,1 b	2,2 a	1,5 c	0,3 a	0,5 a	12,5 a	11,3 c
03	16,4 b	17,3 a	4,9 a	4,7 a	16,6 b	16,8 a	0,2 c	0,2 c	4,3 b	4,9 b	2,1 a	1,6 c	0,4 a	0,6 a	12,8 a	11,9 b
04	17,0 a	16,7 a	4,4 b	4,8 a	15,2 b	16,8 a	0,2 c	0,3 b	3,7 c	4,9 b	2,0 a	1,5 c	0,4 a	0,5 a	12,4 a	11,5 c
05	16,0 b	17,6 a	4,7 a	4,9 a	13,9 b	14,5 a	0,2 c	0,3 b	4,4 b	5,3 b	2,2 a	1,9 c	0,3 a	0,4 b	12,8 a	12,2 b
06	15,9 b	17,6 a	4,4 b	4,6 a	16,1 b	16,9 a	0,3 b	0,3 b	3,5 c	4,8 b	2,0 a	1,7 c	0,3 a	0,7 a	12,3 a	12,5 b
07	15,6 b	15,6 a	4,5 b	4,6 a	16,7 b	15,5 a	0,2 c	0,2 c	3,7 c	4,2 c	2,6 a	2,2 b	0,4 a	0,6 a	12,5 a	11,6 c
08	19,5 a	18,2 a	4,8 a	4,9 a	22,1 a	16,9 a	0,3 b	0,3 b	4,7 b	5,1 b	2,1 a	2,7 a	0,2 a	0,3 b	12,6 a	12,4 b
09	16,0 b	16,9 a	4,6 b	4,8 a	18,4 a	15,5 a	0,3 b	0,3 b	3,9 b	4,3 c	2,3 a	2,1 b	0,3 a	0,3 b	12,3 a	11,0 c
10	17,3 a	17,1 a	4,5 b	4,7 a	17,2 b	13,2 a	0,2 c	0,2 c	3,9 b	4,3 c	2,1 a	2,1 b	0,3 a	0,5 a	12,8 a	11,2 c
11	16,2 b	16,0 a	4,8 a	4,6 a	19,1 a	14,5 a	0,3 b	0,2 c	3,4 c	4,1 c	2,1 a	2,1 b	0,3 a	0,5 a	12,0 a	11,4 c
1B	17,0 a	16,5 a	4,4 b	4,8 a	20,0 a	14,9 a	0,2 c	0,2 c	4,1 b	4,3 c	2,3 a	2,3 b	0,3 a	0,6 a	12,3 a	11,4 c
2B	16,9 a	17,1 a	4,7 a	4,9 a	19,4 a	15,7 a	0,3 b	0,2 c	3,9 b	4,7 b	2,3 a	2,2 b	0,3 a	0,3 b	12,7 a	11,4 c
3B	17,0 a	16,2 a	4,6 b	4,7 a	16,7 b	15,1 a	0,3 b	0,2 c	3,9 b	4,1 c	2,2 a	2,0 b	0,3 a	0,7 a	12,9 a	11,1 c
4B	17,0 a	16,7 a	4,6 b	4,7 a	20,9 a	14,5 a	0,2 c	0,2 c	4,0 b	4,7 b	1,8 a	1,9 c	0,3 a	0,5 a	13,0 a	11,7 c
Cv (%)	7,6**	9,4*	5,2*	3,8*	16,0*	20,5 ^{n.s}	22,0*	24,3 ^{n.s}	12,0**	13,6*	16,5 ^{n.s}	16,2*	37,7 ^{n.s}	22,0**	5,6*	6,1*

Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5%. CV = coeficiente de variação; n.s= não significativo; **= altamente significativo; *= significativo; PP = pré plantio; ¹T = testemunha.

5 CONCLUSÃO

Em sistema protegido (estufa), a inoculação dos isolados 01, 02, 05, 09 e 2B apresentaram médias significativamente superiores em todas as características agronômicas e nos atributos microbiológicos.

No ensaio a campo os isolados 01, 02, 08 e 09 se destacaram tanto pelas características agronômicas, quanto pelas biológicas.

As bactérias 01, 02, 08 e 09 são potenciais bactérias a serem selecionadas para estudo como produto comercial na promoção de crescimento de plantas (inoculante).

6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABDULLAH, M.T.; ALI, N.Y.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 27, p. 1354-1359, 2008.

ALBINO, U.; SARIDAKIS, D.P.; FERREIRA, M.C.; HUNGRIA, M.; VINUESA, P.; ANDRADE, G. High diversity of diazotrophic bacteria associated with the carnivorous plant *Drosera villosa* var. *villosa* growing in oligotrophic habitats in Brazil. **Plant and soil**, v. 287, n. 1-2, p. 199-207, 2006.

ALMEIDA I.R.; SANT'ANNA NETO J.L. The variability in precipitation and the expansion of soybean crop in Brazil: possible scenarios and the hypothesis of climatic changes. In: Dias PLS (ed) **A contribution to understanding the regional impacts of global change in South America**, 1st. Instituto of Advanced studies-IEA/USP, São Paulo, pp 121-150. 2007.

ALVES, T.D.S.; CAMPOS, L.L.; ELIAS NETO, N.; MATSUOKA, M.; LOUREIRO, M.F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 2, 2011.

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Minas Gerais: Agronômica Ceres, 2018. 573 p.

ANANDARAJ, B.; DELAPIERRE, L.R.A. Studies on influence of bioinoculants (*Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium* sp., *Bacillus megaterium*) in green gram. **Journal of Bioscience and Technology**, v. 1, n. 2, p. 95-99, 2010.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient of CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental condition, such as pH, on the microbial of forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANITH, K.N.; MOMOL, M.T. Efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria, acibenzolar-S-methyl, and soil amendment for integrated management of bacterial wilt on tomato. **Plant Disease**. v. 88, p. 669-673, 2004.

ANVISA. **Habilitação para Laboratórios de Microbiologia**. Brasília: Senai, 2005. 38 p.

ARAÚJO, S.F.; MONTEIRO, R.T.R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience journal**, v. 23, p. 66-75, 2007.

ARORA, N.K.; KANG, S.C.; MAHASHWARI, D.K. Isolation of siderophore-producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. **Current Science**. v. 81, n. 6, p. 673-677, 2001.

ASSUMPÇÃO, L.C.; LACAVA, P.T.; DIAS, A.C.F.; AZEVEDO, J.L.; MENTEN, J.O.M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 44, n. 5, p. 503-510, 2009.

AVILA, D.C.R.J.; SPAGIARI, M.S.; SILVA, M.S.; BACH, P.C.; BIZANI, D. **Isolamento de bactérias produtoras de ácido-indol-acético em raízes de Glycine max (Soja) do centro-oeste do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 10 p., 2016. In: 10 SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE QUALIDADE AMBIENTAL. Disponível em: http://www.abesrs.uni5.net/centraldeeventos/_arqTrabalhos/trab_2016100311135800000634.pdf. Acesso em 29 de março de 2019.

BAIS, H.P.; WEIR, T.L.; PERRY, L.G.; GILROY, S.; VIVANCO, J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 233–266, 2006.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 1998.

BÁRBARO, I.M.; BÁRBARO JÚNIOR, L.S.; TICELLI, M.; MACHADO, P.C.; MIGUEL, F.B. Resultados preliminares da co-inoculação de *Azospirillum* juntamente com *bradyrhizobium* em soja. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, p. 1-11, 2011.

BÁRBARO, I.M.; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F.B.; SILVA, J.A.A. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade**. Artigo em Hypertexto. 2008. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm>. Acesso em: 29/3/2019.

BARDIN, S.D.; HUANG, H.C. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. **Canadian Journal Plant Pathology**, v. 23, p. 88-98, 2001.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; AMADO, T.J.C.; MARTIN-NETO, L.; FERNANDES, S.V. Organic matter storage in a sandy clayloam Acrisol affected by tillage and cropping systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 54, p. 101-109, 2000.

BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J.A.H. Controle de doenças de plantas com biofertilizantes. Jaguariúna: **EMBRAPA-CNPMA**. 22p. (Circular Técnica, 02), 1998.

BEVER, J.D.; PLATT, T.G.; MORTON, E. Microbial population and community dynamics on plant roots and their feedbacks on plant communities. **Annual Review in Microbiology**, New York, v. 66, p. 265-283, 2012.

BISSANI, C. A.; GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A. O.; TEDESCO, M. J. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole. 2008. 344p.

BOHRER, T. R. J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 33, n. 6, p. 937-953, jun. 1998.

BONO, J.A.M.; RODRIGUES, A.P.D.C.; MAUAD, M.; ALBUQUERQUE, J.C.; YAMAMOTO, C.R.; CHERMOUTH, K.S.; FREITAS, M.E. Modo de aplicação de fertilizantes nitrogenados na qualidade fisiológica de sementes de milho. *Agrarian*, v. 1, n. 2, p. 91-102, 2008.

BOTTOMLEY, P. J. Microbial ecology. In: SYLVIA, D. M. et al. **Principles and applications of soil microbiology**. 2.ed. New Jersey: Upper Saddle River, 2005. p. 463-488.

BRAGA, G.N.M. **Alumínio, o Inimigo das Plantas**. 2012. Disponível em: <<https://agronomiacomgismonti.blogspot.com/2012/12/aluminio-o-inimigo-das-plantas.html>>. Acesso em: 10/07/2019.

BRAGA, R.M.; SOUZA, F.F.; VENTURIN, N.; BRAGA, F.A. Biomassa e atividade microbiana sob diferentes coberturas florestais. **CERNE**, Lavras, v. 22, n. 2, p. 137-144, 2016.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa no Brasil**. Brasília, DF, 4ª ed. 2017.

BURNS, R. G.; DEFOREST, J. L.; MARXSEN, J.; SINSABAUGH, R. L.; STROMBERGER, M. E.; WALLENSTEIN, M. D.; WEINTRAUB, M. N.; ZOPPINI, A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 58, p. 216-234, 2013.

CAMACHO, M.; SANTAMARÍA, C.; TEMPRANO, F.; RODRIGUEZ-NAVARRO, D. N.; DAZA, A. Co-inoculation with *Bacillus* sp. CECT 450 improves nodulation in *Phaseolus vulgaris* L. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 11, p. 1058-1061, 2001.

CAMPOS, J.T. **RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE CANA-DE-AÇÚCAR**. 2010. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agricultura Tropical e Subtropical, Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2010.

CARDOSO, E.J.B.N.; ANDREOTE, F.D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: Esalq, 2016. 222 p.

CARDOSO, E.J.B.N.; NOGUEIRA, M.A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S., eds. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas, Instituto Agronômico, p. 79-96, 2007.

CARMELLO, V.; SANT'ANNA NETO, J. L. Rainfall Variability and Soybean Yield in Paraná State, Southern Brazil. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v. 2, n. 1, p. 86-97, 2016.

CARNEIRO, M.A.C.; SOUZA, E.D.; REIS, E.F.; PEREIRA, H.S.; AZEVEDO, W.R. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.147-157, 2009.

CARNEIRO, M.C.; ASSIS, P.C.R.; MELO, L.B.C.; PEREIRA, H.S.; PAULINO, H.B.; SILVEIRA NETO, A.N. Atributos bioquímicos em dois solos de cerrado sob diferentes sistemas de manejo e uso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, p. 276-283, 2008.

CARVALHO, F. G. **Variabilidade de isolados de estirpes de *Bradyrhizobium ssp* recomendadas para a cultura da soja**. 2003. Tese (Doutorado em Ciências do solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2003.

CHAGAS JUNIOR, A.F.; RAHMEIER, W.; FIDELIS, R.R.; SANTOS, G.R.; CHAGAS L.F.B. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 709-714, 2010.

CHAPARRO, J.M.; SHEFLIN, A.M.; MANTER, D.K.; VIVANCO, J.M. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 48, n. 5, p. 489-499, 2012.

CHEN, G.; ZHU, H.; ZHANG, Y. Soil microbial activities and carbon and nitrogen fixation. **Research in Microbiology**, v. 154, p. 393-398, 2003.

CLAASSENS, S.; VAN RENSBURG, P.J.J.; MABOETA, M.S.; VAN RENSBURG, L. Soil microbial community function and structure in a post-mining chronosequence. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 194, p. 315-329, 2008.

COMPANT, S.; CLÉMENT, S.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 42, p. 669-678, 2010.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Séries históricas, soja safra 2017/18**. 2018. Disponível em: <<https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/index.php/safra-serie-historica-dashboard>>. Acesso em: 11/08/2018.

COSTA, F.S.; BAYER, C.; ALBUQUERQUE, J.A.; FONTOURA, S.M.V. Aumento da matéria orgânica num Latossolo Bruno em plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 103-107, 2004.

COTTA, S. R. O solo como ambiente para a vida microbiana. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2ed. ESALQ: Piracicaba, SP, 2016. 221p.

CREUS, C. M; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Water relations and yield in Azospirillum inoculated wheat exposed to drought in the field. **Canadian Journal of Botany**, v.82, p.273- 281, 2004.

CRISPINO, C.C.; FRANCHINI, J.C.; MORAES, J.Z.; SIBALDELLE, R.N.R.; LOUREIRO, M.F.; SANTOS, E.N.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Adubação nitrogenada na cultura da soja. **Embrapa Soja-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2001.

DE LUCA, T.H. Relationship of 0,5 M K₂SO₄ extractable anthronereactive carbon to indices of microbial activity in forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.30, p.1293-1299, 1998.

DENARDIN, J. E.; KOCHHANN, R. A.; FAGANELLO, A.; COGO, N. P. Agricultura conservacionista no Brasil: uma análise do conceito à adoção. In: LEITE, L. F. C.; MACIEL, G. A.; ARAÚJO, A. S. F. de. **Agricultura conservacionista no Brasil**, Brasília, DF: Embrapa, 2014, 598 p.

DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.1682–1694, 2009.

DONAGEMA, G.K.; CAMPOS, D.V.B.; CALDERANO, S.B.; TEIXEIRA, W.G.; VIANA, J.H.M. Manual de métodos de análise de solo. **Embrapa Solos-Documents (INFOTECA-E)**, 2011.

EHRHARDT-BROCARD, N.C.M. **Caracterização e avaliação da eficiência simbiótica de diazotróficos isolados de bractinga**. 2013. 66p. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo), Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages. 2013

EL-BAROUGY, AWAD, N.M., TURKY, A.S., HAMED, H.A. Antagonistic activity of selected strains of rhizobacteria against *Macrophomina phaseolina* of soybean plants. **American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science**, v. 5, p. 337-347, 2009.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. – Rio de Janeiro : EMBRAPA-SPI, 2006. 306 p.

EMBRAPA. (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária); Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo, Rio de Janeiro, **Manual de análises de solo**. 2ª ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja. Sistemas de Produção 16, 2013. 265p.

ESQUIVEL-COTE, R.; GAVILANES-RUIZ, M.; CRUZ-ORTEGA, R.; HUANTE, P. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 36, n. 3, p. 251-258, 2013.

FAGAN, E.B.; MANFRON, P.A.; CASAROLI, D.; SIMON, J.; NETO, D.D.; VAN LIER, Q.J.; SANTOS, O.S.; MULLER, L. Fisiologia da Fixação Biológica do Nitrogênio em Soja – Revisão. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v. 14, n. 1, p. 89-106, 2007.

FARIA, G.E.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; SILVA, I.R.; NEVES, J.C.L. Carbono orgânico total e frações da matéria orgânica do solo em diferentes distâncias do tronco de eucalipto. **Scientia forestalis**, v. 36, p. 265-277, 2008.

FARIAS NETO, A.L.; DIANESE, A.C.; SOUZA, P.I.M.; MOREIRA, C.T.; ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S. Podridão-vermelha-da-raiz e Mofo-branco na Cultura da Soja. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.

FARIAS NETO, A.L.; HARTMAN, G.L.; PEDERSEN, W.L.; LI, S.; BOLLERO, G.A.; DIERS, B.W. Irrigation and inoculation treatments that increase the severity of soybean sudden death syndrome in the field. **Crop Science**, v. 46, p. 2547-2554, 2006.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11p. (Special Report, 80).

FERLINI, H. A. Co-Inoculación en Soja (*Glicyne max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. **Artículos Técnicos – Agricultura**. 2006. Disponível em: <<https://www.engormix.com/agricultura/articulos/co-inoculacion-en-soja-t26446.htm>> Acesso: 28/04/2019.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, vol. 38, n. 2, p. 109-112. 2014.

FILIPPI, D.; TIECHER, T. **Extração ou exportação de nutrientes pelas plantas?** 2019. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/extracao-ou-exportacao-de-nutrientes-pelas-plantas/>>. Acesso em: 23/06/2019.

FRANCHINI, J. C.; CRISPINO, C. C.; SOUZA, R. A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil & tillage research**, v. 92, p.18-29, 2007.

FREITAS, S.S. Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agrônomo: Campinas, 2007. 312p.

FRONZA, V. **Genética da reação da soja a Fusarium solani f. sp. glycines**. 2003. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FUNDACIÓN PRODUCE SINALOA. Memoria Agricultura orgánica. Memorias del Curso Eco Agro de Agricultura Orgánica. **Fundación produce Sinaloa. Guamúchil**, Sinaloa, México. p. 7-9, 2006.

FURLAN, S.H. Mofo branco. **Doenças da Soja: Melhoramento genético e técnicas de manejo**, p. 53-72, 2015.

GÁSPERI, A.C.; PRESTES, A.M.; COSTAMILAN, L.M. Reação de cultivares de soja à podridão vermelha da raiz causada por *Fusarium solani* f. sp. *glycyne*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 544-547, 2003.

GLICK, B.R.; CHENG, Z.; CZARNY, J.; DUAN, J. Promotion of plant growth by ACC deaminase producing soil bacteria. **European Journal of Plant Pathology**, v.119, p. 329-339, 2007.

GOVINDARAJAN, M.; BALANDREAU, J.; MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; LAKSHINARASIMHAN, C. Improved yield of micropropagated sugarcane following inoculation by endophytic *Burkholderia vietnamiensis*. **Plant and Soil**, v. 280, n. 1/2, p. 239-252, 2006.

GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stress. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 27, p1231-1240, 2011.

GUERRA, J.G.M.; SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CAMARGO, F.A.O. Macromoléculas e substâncias húmicas. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P. & CAMARGO, F.A.O., eds. **Fundamentos da matéria orgânica do solo. Ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre, Metrópole, p.19-25, 2008.

HAAS, D.; DÉFAGO, G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nat. Revista de Microbiologia**, v. 3, p. 307-319, 2005.

HAN, H. S.; LEE, K. D. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v.1, p. 210-215, 2005.

HARDOIM, P.R.; VAN OVERBEEK, L.S.; VAN ELSAS, J.D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 16, n. 10, p. 463-471, 2008.

HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio na perspectiva do Mercosul: novos conhecimentos e tecnologias disponíveis. In: CONGRESO DE LA SOJA DEL MERCOSUR, 5.; FORO DE LA SOJA ASIA, 1., 2011, Rosário. **Un grano: um universo**. [Rosário: Asociación de la Cadena de la Soja Argentina]. p. 2, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant And Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

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**. Londrina: Embrapa, 2007. 80 p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Embrapa Soja; Brasília, DF: **Embrapa Cerrados**, 2001.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C.; GRAHAM, P.H. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in South America. In: SINGH, R.P.; SHANKAR, N.; JAIWAL, P.K. (Ed.). Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity. Houston: **Studium Press**, LLC, p.43-93, 2006.

HUNGRIA, M.; MENDES, I.C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In; DE BRUIJIN, F.J. (Ed.) **Biological nitrogen fixation**. V.2. New Jersey; Jown Wiley & Sons, 2015. P. 1009-1023.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Tecnologia de coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: incrementos no rendimento com sustentabilidade e baixo custo. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 33., 2013, Londrina. Resumos expandidos... Brasília, DF: Embrapa, 2013.

JAKELAITIS, A.; SILVA, A.A. da; SANTOS, J.B. dos; VIVIAN, R. Qualidade da camada superficial de solo sob mata, pastagens e áreas cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.38, p.118-127, 2008.

JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effect of biocidal treatment on metabolismo in soil. V. A method of measuring soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**,[s.l.]. v. 8, p. 209-213, 1976.

JIANG, H.; EGLI, D.B. Shade induced in flower and pod number and flower and fruit abscission in soybean. **Agronomy Journal**, Madison, v.85, n.2, p. 221-225, 1993.

JURBURG, S.D.; SALLES, J.F. Functional redundancy and ecosystem function: the soil microbiota as a case study. In: YUEH-HSIN LO; BLANCO, J.A.; ROY, S. (Ed.). **Biodiversity in ecosystems: linking structure and function**. InTech, 2015. chap. 2, p. 29-49.

KARLEN, D.L.; DITZLER, C.A.; ANDREWS, S.S. Soil quality: why and how? **Geoderma**, Amsterdam, v. 114, n. 3/4, p. 145-156, 2003.

KASIM, W. A.; OSMAN, M. E.; OMAR, M. N.; EL-DAIM, I. A. A.; BEJAI, S.; MEIJER, J. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, Egypt, v.32, n.1, p. 122-130, 2013.

KENNEDY, A.C.; SMITH, K.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant Soil**, 170:75-86, 1995.

KNOB, A. **Atividade enzimática na rizosfera de espécies leguminosas nativas mediadas por rizobactérias e micorrizas arbusculares**. 2005. 91 p. Tese (Mestrado em Microbiologia), Universidade Estadual de Londrina. Londrina. 2005.

LABRA-CARDÓN, D.; GUERRERO, Z.L.A.; RODRÍGUEZ, T.A.V.; MONTES, V.S.; PÉREZ, J.S.; RODRÍGUEZ, D.A. Respuesta de crecimiento y tolerancia a metales pesados de *Cyperus elegans* y *Echinochloa polystachya* inoculadas con una rizobacteria aislada de un suelo contaminado con hidrocarburos derivados del petróleo. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 28, p. 7-16, 2012.

LADHA, J.K.; REDDY, M.P. Nitrogen fixation in rice systems: state of knowledge and future prospects. **Plant and Soil**, v. 252, p. 151-167, 2003.

LEITE, L.F.C.; ARAÚJO, A.S.F. Ecologia microbiana do solo. **Embrapa Meio-Norte-Documentos (INFOTECA-E)**, 2007.

LEITE, R.M.V.B.C. Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja. **Embrapa Soja**. Londrina PR. (Comunicado Técnico 76), 2005.

LEMESSA, F.; ZELLER, W. Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia. **Biological Control**, v. 42, p. 336-344, 2007.

LI, J.H.; WANG, E.T.; CHENA, W.F.; CHENA, W.X. Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 238-246, 2008.

MAKOI, J. H. J. R.; NDAKIDEMI, P. A. Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 181-191, 2008.

MARCHIORO, L.E.T. **Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2005. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B.; ASSIS, S.M.P.; GOMES, A.M.A.; NASCIMENTO, A.R.P.; DONATO, V.M.T.S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 1, p. 89-111, 2004.

MATZENAUER, R.; BERNI, N. A; MALUF, J. R. T. Estimativa do consumo relativo de água para a cultura da soja no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 6, 2003.

MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 565-572, 2004.

MELERO, M. M.; GITTI, D. D. C.; ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F. Coberturas vegetais e doses de nitrogênio em trigo sob sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 4, p. 343-353, 2013.

MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de (Ed.). **Ecologia microbiana**, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1998. 488 p.

MENDES, I.; BUENO, F. **Microrganismos do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas**: Os microrganismos são os responsáveis pelo funcionamento do solo. 2013. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=21079&secao=Not%EDcias>>. Acesso em: 29 de março de 2019.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, J. Bioindicadores para Avaliação da Qualidade dos Solos Tropicais: utopia ou realidade?. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, p. 31. Documentos 246, 2009.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B. Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas. **Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E)**, 2004.

MENDES, I.C.; REIS, F.B.J.; CUNHA, M.H. 20 Perguntas e respostas sobre fixação biológica de nitrogênio. Planaltina: **Embrapa cerrados**, 2010. 33 p.

MENDES, R.; KRUIJT, M.; BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VAN DER VOORT, M.; SCHNEIDER, J.H.M.; PICENO, Y.; DE SANTIS, T.Z.; BAKKER, P.A.H.M.; RAAIJMAKERS, J.M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease suppressive bacteria. **Science**, New York, v. 332, p. 1097-1100, 2011.

MERCANTE, F.M.; FABRICIO, A.C.; MACHADO, L.A.Z.; SILVA W.M. **Parâmetros microbiológicos como indicadores da qualidade do solo sob sistemas integrados de produção agropecuária**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 20).

MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. Dinâmica da matéria orgânica e da biomassa microbiana em solo submetido a diferentes sistemas de manejo na Amazônia Ocidental. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1103-1110, 2004.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed.UFLA: Lavras, 2006. 729p.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**. v. 1, n. 2; p. 74-99. 2010.

MORENO RESÉNDEZ, A.; MENDOZA, V.G.; CARRILLO, J.L.R.; ARROYO, J.V.; RIOS, P.C. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. **Revista colombiana biotecnología**, Bogotá, v. 20, n. 1, p. 68-83, 2018.

NAVARRO JUNIOR, H.M.; COSTA, J.A. Contribuição relativa dos componentes do rendimento para produção de grãos em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: 1977. Brasília. Vol. 37, n. 3, p. 269-274, 2002.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry Lecture Notebook**. W. H. Freeman, 2004.

NICOLAU, P. B. **Microbiologia ambiental: perspectiva histórica**. Universidade Aberta: Inhuma - PI, 2014. 21p.

ODUM, E.P. Trends expected in stressed ecosystems. **BioScience**, Londres, v. 35, p. 419-422, 1985.

PANDEY, A.; PALNI, L. M. The rhizosphere effect intrees of the Indian Central Himalaya with special reference to altitude. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 5, p. 93-102, 2007.

PASCUAL, J.A.; GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, M.T.; MORENO, J.L.; ROS, M. Soil microbial activity as a biomaker of degradation and remediation processes. **Soil biology and Biochemistry**, v. 32, p.1877-1883, 2000.

PATTEN, C.L; GLICK, B.R. Role of *Pseudomonas putida* indolacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and Enviromental Microbiology**, vol. 68, n. 8, p. 3795-3801, 2002.

PAULA, G.F. **Seleção de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas**. 2018. 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, 2018.

PAULETTI, V.; MOTTA, A. C. V. Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná. Curitiba: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Núcleo Estadual Paraná**, 2017.

PEDRINHO, E.A.N. JÚNIOR, R.F.G.; CAMPANHARO, J.C.; ALVES, L.M.C.; LEMOS, E.G.M. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p. 905-911, 2010.

PEREZ, K.S.S; RAMOS, M.L.G.; MCMANUS, C.; Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.567-573, 2004.

PÔRTO, M.L.; ALVES, J.C.; DINIZ, A.D.; SOUZA, A.P.; SANTOS, D. Indicadores biológicos de qualidade do solo em diferentes sistemas de uso no brejo paraibano. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1011-1017, 2009.

PRANDO, A.M.; ZUCARELI, C.; FRONZA, V.; OLIVEIRA, E.A.P.; PANOFF, B. Formas de ureia e doses de nitrogênio em cobertura na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 2, p. 272-279, 2012.

PRESTON, G.M. Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. **Philosophical Transactions of the Royal Society**. n. 359, p. 907-918, 2004.

PULLEMAN, M.; CREAMER, R.; HAMER, U.; HELDER, J.; PELOSI, C.; PÉRES, G., RUTGERS, M. Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services an overview of European approaches. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 4, n. 5, p. 529-538, 2012.

QUESADA, D.M.; BODDEY, R.M.; REIS, V.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Potencial de genótipos de *Pennisetum purpureum* para a alta produção de biomassa e eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN). **Embrapa Agrobiologia- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2001.

REED, S.C.; CLEVELAND, C.C.; TOWNSEND, A.R. Functional ecology of free-living nitrogen fixation: a contemporary perspective. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**. v. 42, p. 489-512, 2011.

REMANS, R.; BEEBE, S.; BLAIR, M.; MANRIQUE, G.; TOVAR, E.; RAO, I.; CROONENBORGH, A.; TORRES, G.R., EI-HWEITY, M.; MICHIELS, J.; VANDERLEYDEN, J. Physiological and genetic analysis of root responsiveness to auxin-producing plant growth promoting bacteria in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Soil**. v. 302, p. 149-161, 2008.

ROSSELLÓ-MORA, R.; AMANN, R. The species concept for prokaryotes. **FEMS Microbiology Review**, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 39-67, 2001.

ROSSI, C.Q.; PEREIRA, M.G.; GIÁCOMO, S.G.; BETTA, M.; POLIDORO, J. C. Frações lábeis da matéria orgânica em sistema de cultivo com palha de braquiária e sorgo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 1, p. 38-46, 2012.

RYAN, R.P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D.J.; DOWLING, D.N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **FEMS Microbiology Letters**, v. 278, p. 1-9, 2008.

SALA, V.M.R.; CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, J.G.; SILVEIRA, A.P.D. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 6, p. 833-842, 2007.

SANTOS, A.F.J.; HANNA, S.A. Prospecção tecnológica de patentes na produção de bioinoculantes e biofertilizantes. **Cadernos de Prospecção**, v. 10, n. 2, p. 300, 2017.

SANTOS, D.; SIQUEIRA, D. L.; SALOMÃO, L. C. C.; CECON, P. R.; OLIVEIRA, G. P.; MACHADO, D. L. M. ;ZUCOLOTO, M. Teores de carboidratos e fluorescência da clorofila a em folhas de limeiras ácidas 'Tahiti' submetidas ao anelamento e incisão anelar de ramos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.10, p.1725-1731, 2014.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**, 3 ed. Brasília, DF: Embrapa, 353 p., 2013.

SHI, Y.; LOU, K.; LI, C. Growth and photosynthetic efficiency promotion of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by endophytic bacteria. **Photosynthesis Research**. v. 105, p.5-13, 2010.

SHILEV, S. Soil Rhizobacteria Regulating the Uptake of Nutrients and Undesirable Elements by Plants. In: ARORA, N.K. (ed.) *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances*. Springer, India, p. 147-50, 2013.

SHIOMI, H. F.; FERREIRA, M.V.R.; MELO, I.S. Bioprospecção de isolados bacterianos para o controle biológico do mofo branco na soja. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2017.

SILVA, E.E.; DE AZEVEDO, P.H.S.; DE-POLLI, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO_2). **Embrapa Agrobiologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

SILVA, G.C.; GOMES, D.P.; KRONKA, A.Z.; MORAES, M.H. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) provenientes do Estado de Goiás. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, p. 29-34, 2008.

SILVA, I.R.; MENDONÇA, E.S. **Matéria orgânica do solo**. In: NOVAIS, G.N.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, B. & NEVES, J.C.L., eds. *Fertilidade do solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.275-374.

SILVA, R.R.D.; SILVA, M.L.N.; CARDOSO, E.L.; MOREIRA, F.M.D.S.; CURI, N.; ALIVISI, A.M.T. Biomassa e atividade microbiana em solos sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica campos das vertentes - MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 34, p. 1585-1592, 2010.

SOBRAL, J.K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endófitos-planta**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2003.

SOTTERO, A.N.; FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; TRANI, P.E. Rizobactérias e alfaca: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 225-234, 2006.

SOUZA, E.D., CARNEIRO, M.A.C.; PAULINO, H.B. SILVA, C.A.; BUZETTI, S. Frações do carbono orgânico, biomassa e atividade microbiana em um Latossolo Vermelho sob Cerrado submetido a diferentes sistemas de manejos e usos do solo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n.3, p. 323-329, 2006.

SOUZA, R.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CHUEIRE, L.M.O.; BARCELLOS, F.G.; CAMPO, R.J. Avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 1, p. 71-82, 2008.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS R. Indole 3 acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 425-448, 2007.

SPOSITO, G.; ZABEL, A. The assessment of soil quality. **Geoderma**, Amsterdam, v. 114, n. 3/4, p. 143-144, 2003.

SU, G.; SUH, S.O.; SCHNEIDER, R.W.; RUSSIN, J.S. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. **Phytopathology**, v. 91, n. 2, p. 120-126, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre; Artmed, 2009.

THANH, D.T.; TARN, L.T.T.; HANH, N.T.; TUYEN, N.H.; SRINIVASAN, B.; LEE, S.Y.; PARK, K.S. Biological control of soilborne diseases on tomato, potato and black pepper by selected PGPR in the greenhouse and field in Vietnam. **The Plant Pathology Journal**, v. 25, n. 3, p. 263-269, 2009.

TOKESHI, H. Doenças e pragas agrícolas geradas e multiplicadas pelos agrotóxicos. **Fitopatologia brasileira**, v. 25 (Suplemento), p. 264-70, 2000.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: V. ALVAREZ, V.H. et al. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do solo, v. 1, p. 487-592, 2002.

UBALUA, A.O. Cassava wastes: treatment options and value addition alternatives. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 18, p. 2065-2073, 2007.

VAN ELSAS, J.D.; CHIURAZZI, M.; MALLON, C.A.; ELHOTTOVA, D. KRISTUFEK, V.; SALLES, J.F. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, New York, v. 109, n. 4, p. 1159-1164, 2012.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. **Soil Biology & Biochemistry**, v.19. n. 6, p. 703-707, 1987.

VASCONCELLOS, R.L.F.; SEGAT, J.C.; BONFIM, J.A.; BARETTA, D.; CARDOSO, E.J.B.N. Soil macrofauna as an indicator of soil quality in an undisturbed riparian forest and recovering sites of different ages. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 58, p. 105-112, 2013.

VENZKE FILHO, S.P. **Biomassa microbiana do solo sob sistema de plantio direto na região de Campos Gerais, Tibagi, PR.** 2003. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica.** Viçosa/MG: EPAMIG, 2010. 232p.

VERHAGEN, B.W.; GLAZEBROOK, J.; ZHU, T.; CHANG, H.S.; VAN LOON, L.C.; PIETERSE, C.M.J. The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in *arabidopsis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions.** v. 17, p. 895-908, 2004.

VESSEY, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571-586, 2003.

WELLER, D.M. *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. **Phytopathology.** v. 97, p. 250-256, 2007.

YANG, J.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C. M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, USA, v.14, n.1, p. 1-4, 2009.

YUWONO, T.; HANDAYANI, D.; SOEDARSONO, J. The role of osmotolerant rhizobacteria in rice growth under different drought conditions. **Australian Journal of Agricultural Research**, n. 56, p. 715-721, 2005.

ZANCAN, W.L.A.; MACHADO, J. da C.; SOUSA, B.F.M. de; MATOS, C. de S.M. Crescimento micelial, produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 782-789, 2012.

ZILLI, J.É.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVES, M.C.P. DIVERSIDADE MICROBIANA COMO INDICADOR DE QUALIDADE DO SOLO. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 391-411, 2003.

7 ANEXO I

Equações utilizadas para os cálculos das características microbiológicas

Carbono da biomassa microbiana (CBM)

$$CBM = (\text{mg de C microbiano} \cdot \text{Kg}^{-1} \text{ solo}) = FC \cdot K_{ec}^{-1}$$

Em que:

CBM = Carbono da biomassa microbiana do solo em mg de C kg⁻¹ de solo;

FC = fluxo obtido da diferença entre a quantidade de C (mg kg⁻¹) recuperado no extrato da amostra fumigada e não-fumigada do solo;

K_{ec} = fator de correção (0,33).

Respiração basal (RB)

$$RBS (\text{mg de C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}) = (((V_b - V_a) \times M \times 6 \times 1000) / P_s) / T$$

Em que:

RB = Carbono oriundo do metabolismo dos microrganismos do solo;

V_b (mL) = Volume de HCl gasto na titulação da solução controle (branco);

V_a (mL) = Volume gasto na titulação da amostra;

M = Molaridade exata do HCl;

P_s (g) = Massa de solo seco;

T = Tempo de incubação das amostras em horas.