



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
CAMPUS LUIZ MENEGHEL**

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MARCO AURÉLIO DA SILVA

**INFLUÊNCIA DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E FÚLVICAS NOS
ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO**

BANDEIRANTES. PR, BRASIL

2023

MARCO AURÉLIO DA SILVA

**INFLUÊNCIA DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E FÚLVICAS NOS
ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO**

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

2023

Ficha catalográfica elaborada por Lidia Orlandini Feriato Andrade, CRB 9/1556, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UENP

Silva, Marco Aurélio da

S586i Influência das substâncias húmicas e fúlvicas nos atributos químicos e microbiológicos do solo / Marco Aurélio da Silva; orientador Leopoldo Sussumu Matsumoto - Bandeirantes, 2023.

37 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Agronomia) - Universidade Estadual do Norte do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2023.

1. Agricultura. 2. Solo. 3. Compostos orgânicos.
4. Bioinsumos. I. Matsumoto, Leopoldo Sussumu, orient. II. Título.

CDD: 631.42

MARCO AURÉLIO DA SILVA

**INFLUÊNCIA DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E FÚLVICAS NOS
ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO**

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

Aprovado em 28/06/2023

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto

UENP

Dr. Mateus Marrafon Nicolosi

MAIS MÁQUINAS

Dra. Karina Aline Alves

IDR - PARANÁ

SUPLENTES

Prof. Dr. Oriel Tiago Kölln

UENP

Prof. Dr. Marco Antonio Gandolfo

UENP

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

DEDICATÓRIA

Agradeço a Deus pelo dom da vida, à minha mãe, minha esposa e meus filhos que são a razão do meu viver. Meu profundo e eterno agradecimento.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por minha saúde e por todas as bênçãos que ele tem proporcionado a mim e à minha família.

A minha mãe Ofélia Miotto da Silva, pela educação e por ter me ensinado os valores da vida.

A minha esposa Natália Guerra Silva, minha companheira que sempre me apoio e ajuda a vencer nos desafios e batalhas de minha vida e aos meus amados e queridos filhos Marina Guerra Silva, Uriel Guerra Silva e Arthur Guerra Silva. Compartilho com vocês essa conquista.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto, pela disposição, confiança, conselhos, ensinamentos, paciência e determinação à pesquisa científica.

Ao amigo Erick Negão Tomasi que me apoio e disponibilizou a área para que esse projeto se concretizasse, sou grato pela sua ajuda.

Ao amigo Marco Enrico Bucci que depositou confiança em mim e no do produto, e, foi onde surgiu a ideia de iniciar esse projeto.

À empresa Cromptec Fertilizantes que cedeu os produtos para condução do projeto.

Aos amigos que me ajudaram nas avaliações a campo. Rodrigo Gongora, Caio Almeida, Giorgis Yanagu

A Sônia Fronteli que sempre estava disposta para orientar.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia de Solo – Lab MicroS. Nathalia Lameu e Anderson.

A todos que de alguma forma, contribuíram para a realização desse projeto.

SILVA, M.A. **Influência das substâncias húmicas e fúlvicas nos atributos químicos e microbiológicos do solo.** Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus Luiz Meneghel*, Bandeirantes – PR, 2023.

RESUMO

A agricultura atual vem intensificando os estudos no intuito de diminuir os impactos ambientais causados por defensivos agrícolas. As substâncias húmicas e fúlvicas são compostos orgânicos oriundos da decomposição de resíduos vegetais e animais do ambiente, que podem ser utilizados como insumos alternativos para o manejo de diversas culturas. Objetivo deste trabalho foi avaliar a influência das substâncias húmicas e fúlvicas sobre os atributos químicos e microbiológicos do solo na cultura da soja. O ensaio foi conduzindo a campo na cidade Itambaracá-PR., onde foram avaliados o uso de duas doses de substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos com e sem associação com *Bacillus* sp., totalizando 6 tratamentos e 5 repetições. Foram avaliados os atributos químicos e microbiológicos do solo antes do plantio e em estágio de florescimento (R2), as amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0 - 10 cm e avaliados os macronutrientes, pH e matéria orgânica presente no solo. Nas análises microbiológicas, foram avaliadas o Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), Respiração Basal do solo (RBS), quociente microbiano e metabólicos para determinar a atividade microbiana. Os parâmetros agronômicos avaliados foram a massa fresca e seca da parte aérea e raiz, peso seco dos nódulos e a produtividade. Os resultados pouca variação nos atributos químicos, no entanto observa-se melhora considerável na concentração da matéria orgânica em áreas que receberam substâncias húmicas e fúlvicas na dose de 4 L ha⁻¹, fato também observado nos atributos microbiológicos em tratamento sem a adição de *Bacillus* sp. Nos atributos agronômicos os tratamentos não diferiram estatisticamente comparado a testemunha. Como consequência na melhora da matéria orgânica e atributos microbiológicos, nota-se melhor desenvolvimento da planta e também incremento na produtividade de 10 a 14 sacas por hectares, com dose de 4 L ha⁻¹ sem e com associação de *Bacillus* sp. Conclui-se que as substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose de 4 L ha⁻¹ com ou sem associação com a bactéria *Bacillus* sp. promoveu melhora nos atributos microbiológicos do solo e consequentemente no desenvolvimento da cultura da soja.

Palavras-chave: Bioindicadores de qualidade do solo, bioinsumos, rizobactérias e *Glycine max*

SILVA, M. A. **Influence of humic and fulvic substances on chemical and microbiological soil attributes.** Master's Dissertation in Agronomy – State University of Northern Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes – PR, 2023.

ABSTRACT

Current agriculture has been intensifying studies in order to reduce the environmental impacts caused by pesticides. Humic and fulvic substances are organic compounds derived from the decomposition of plant and animal waste from the environment, which can be used as alternative inputs for the management of various crops. The objective of this work was to evaluate the influence of humic and fulvic substances on the chemical and microbiological attributes of the soil in the soybean crop. The test was carried out in the field in the city of Itambaracá-PR., where the use of two doses of substances based on humic and fulvic acids with and without association with *Bacillus* sp. were evaluated, totaling 6 treatments and 5 repetitions. The chemical and microbiological attributes of the soil were evaluated before planting and at the flowering stage (R2), soil samples were collected at a depth of 0 -10 cm and macronutrients, pH and organic matter present in the soil were evaluated. In the microbiological analyses, Microbial Biomass Carbon (CBM), Soil Basal Respiration (RBS), microbial and metabolic quotient were evaluated to determine the microbial activity. The agronomic parameters evaluated were fresh and dry mass of shoots and roots, dry weight of nodules and productivity. The results show little variation in the chemical attributes, however there is a considerable improvement in the concentration of organic matter in areas that received humic and fulvic substances at a dose of 4 L ha⁻¹, a fact also observed in the microbiological attributes in treatment without the addition of *Bacillus* sp. In terms of agronomic attributes, the treatments did not differ statistically compared to the control. As a consequence of the improvement in organic matter and microbiological attributes, better plant development is observed and also an increase in productivity of 10 to 14 bags per hectare, with a dose of 4 L ha⁻¹ without and with association of *Bacillus* sp. It is concluded that substances based on humic and fulvic acids at a dose of 4 L ha⁻¹ with or without association with *Bacillus* sp. promoted improvement in the microbiological attributes of the soil and consequently in the development of the soybean crop.

Keywords: Soil quality bioindicators, bioinputs, rhizobacteria and *Glycine max*

LISTA DE ABREVIATURAS

AHF 1 - 2	Ácidos húmicos e fúlvicos;
BAC	Bacillus sp.;
BMS	Biomassa Microbiana do Solo;
CaCl₂	Cloreto de cálcio;
Ca	Cálcio;
CBMS	Carbono da Biomassa Microbiana do Solo;
CLM	Campus Luiz Meneghel;
C.O.T	Carbono Orgânico Total;
CO₂	Gás carbônico;
µl	Micro litro;
cm	Centímetros;
COT	Carbono orgânico total;
CTC	Capacidade de troca de cátions;
dm³	Decímetro cúbico;
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio;
g	Gramas;
H⁺	Hidrogênio;
H₂O	Água;
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio;
H₂SO₄	Ácido Sulfúrico;
ha⁻¹	Hectares;
IAC	Instituto Agronômico de Campinas;
K	Potássio;
Kg	Quilogramas;
K₂SO₄	Sulfato de potássio
L	Litro;
MFPA	Massa fresca da parte aérea;
MFR	Massa fresca da raiz;
Mg	Magnésio;
mL	Mililitro;
mg	miligrama
mm	Milímetros;

MFR Massa Fresca Raiz;
M.O. Matéria orgânica;
MSPA Massa seca da parte aérea;
MSR Massa seca da raiz;
N Nitrogênio;
O Oxigênio;
P Fósforo;
pH Potencial hidrogênioônico;
qCO₂ Quociente Metabólico;
qMIC Quociente Microbiano;
RBS Respiração Basal do solo;
RPM Rotações por minuto;
R1 Estádio reprodutivo 1
T Testemunha
UENP Universidade Estadual do Norte do Paraná;
UENP/CLM Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel;
V% Saturação de base;

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise química do solo pré-plantio

Tabela 2. Análise microbiológica do solo pré-plantio.

Tabela 3. Descrição dos tratamentos do ensaio soja safra 2021/2022

Tabela 4. Análise química realizada no estágio de pleno florescimento (R1-2) na cultura da soja.

Tabela 5. Análise dos atributos microbiológicos dos solos de mata, agrossistema e barranco

Tabela 6. Parâmetros agrônômico da planta soja (parte aérea, raiz, nódulos e produtividade).

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	A cultura da soja.....	14
2.2	Substâncias húmicas e fúlvicas	15
2.3	<i>Bacillus spp.</i>	16
2.4	Comunidade microbiana do solo.....	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Caracterização do experimento	20
3.2	Delineamento Experimental	20
3.3	Atributos Químicos e Microbiológicos do Solo.....	22
3.3.1	Determinação de pH e Nutrientes químicos.....	22
3.3.2	Determinação de Matéria Orgânica.....	22
3.3.3	Determinação da Saturação por bases.....	22
3.3.4	Determinação do Carbono Orgânico Total (COT).....	22
3.3.5	Determinação da Biomassa de Carbono Microbiano (C_BMS).....	23
3.3.6	Determinação da Respiração Basal do Solo (RBS)	24
3.3.7	Determinação do Quociente Metabólico do solo (qCO_2).....	24
3.3.8	Determinação do Quociente Microbiano ($qMIC$)	25
3.4	Avaliação agronômica	25
3.5	Análise Estatística.....	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5	CONCLUSÃO	31
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é considerada atualmente uma das matérias primas de maior importância, tanto em nível nacional, como também mundial. Essa leguminosa possui em sua composição alto valor nutricional e se destaca por ter elevada quantidade de proteína em seu grão, se tornando assim, uma excelente opção de substituição da proteína animal por uma de origem vegetal na alimentação humana (LOPES; PELÚZIO; MARTINS, 2016).

A maior produção de soja no Brasil encontra-se concentrada nos Estados do Mato Grosso (considerado o maior produtor brasileiro), Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás. Na safra de 2021/2022 o Brasil teve uma produção de 124 milhões toneladas de grãos de soja (CONAB, 2022).

Assim como outras importantes culturas de nível econômico e social, a soja apresenta diferentes exigências nutricionais para o sucesso em seu desenvolvimento, as deficiências nutricionais são responsáveis pela redução de produtividade, e estão associadas a sintomas característicos da falta de cada nutriente. (CONAB, 2016). O uso adequado de fertilizantes nas regiões produtoras de soja é fundamental para se alcançar altas produtividades. A análise físico-química dos solos possibilita o correto suprimento das principais necessidades nutricionais da cultura e visa otimizar os custos de implantação e manutenção da lavoura (CONAB, 2016).

A soja apresenta diferentes exigências nutricionais durante todo o seu desenvolvimento, além dos macronutrientes (C, H, O) fornecidos pela atmosfera (O₂, CO₂ e H₂O), a cultura também carece de nutrientes que são fornecidos pelo solo, como: P, K, Ca, Mg, S, B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Co e Zn e, no caso do N, parte pelo solo e parte pela atmosfera. As desordens nutricionais estão entre os fatores responsáveis pela redução de produtividade (CARMELLO; OLIVEIRA, 2006).

Sabendo-se da importância dos nutrientes às plantas e seus efeitos no desenvolvimento e produtividade, a procura por estimulantes que possam contribuir para a melhor absorção de nutrientes na busca de maior produtividade tem se tornado alvo de muitos estudos. Os biofertilizantes, biorreguladores, bioestimulantes e bioativadores são citados como os principais estimulantes capazes de promover efeitos importantes nas plantas, estimulando a comunidade microbiana do solo de forma a alterar o desenvolvimento e a produtividade dos cultivos (MORZELLE et al., 2017).

O uso desses estimulantes tem se tornado uma importante ferramenta para produtores e pesquisadores na busca do aumento de produtividade das culturas, com menor impacto no ambiente (SOARES, 2013). Entre os estimulantes destacam-se os biofertilizantes.

Tendo em vista que a aplicação de biofertilizantes pode contribuir com melhor produção da cultura da soja, a busca por informações referentes à aplicação via sulco de semeadura se faz necessária para proporcionar o conhecimento de diferentes alternativas de manejo e uso destes produtos, tais como impacto sobre os microrganismos do solo, responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, mineralização e solubilização de nutrientes à planta.

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da aplicação de substâncias húmicas e fúlvicas nos atributos químicos e microbiológicos do solo no desenvolvimento na cultura da soja.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da soja

O primeiro relato da cultura da soja no Brasil se deu no Estado da Bahia, em meados do ano 1882. Em 1892, o primeiro cultivo do produto foi instituído no Estado de São Paulo, por iniciativa de Franz Daffert, primeiro diretor do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC, 2000). Apesar de o primeiro cultivo comercial de soja no Brasil datar de 1914 em Santa Rosa, RS, a cultura somente adquiriu alguma importância econômica no final dos anos 40. O ano de 1941 foi marcado com o primeiro registro estatístico nacional de produção de soja: produção de 457 toneladas (t) (Anuário Agrícola do Rio Grande do Sul) (DALL'AGNOL, 2016).

A soja é considerada a produção agrícola que mais cresceu nas últimas três décadas no país (CONAB, 2016). No final da década de 60, dois fatores internos fizeram o Brasil começar a enxergar a soja como um produto comercial, fato que mais tarde influenciaria no cenário mundial de produção do grão. A soja surgia como uma opção de verão, em sucessão ao trigo, além disso, iniciava um esforço para produção de suínos e aves, gerando demanda por farelo de soja. Em 1966, a produção comercial de soja já era uma necessidade estratégica, sendo produzidas cerca de 500 mil toneladas no país.

As cultivares semeadas podem apresentar tipo de crescimento determinado, semi determinado e indeterminado. Cultivares de crescimento determinado se caracterizam pelo crescimento nulo ou pequeno em estatura após o início do florescimento. Já no caso de plantas com crescimento do tipo indeterminado continuam emitindo nós e alongando a haste após o estágio R1, o que leva ao crescimento significativo em estatura e aumento do número de nós até o início do enchimento de grãos. E as cultivares com tipo de crescimento semi determinado possuem características intermediárias aos outros tipos de crescimento (ZANON et al., 2018).

O desenvolvimento e o crescimento das plantas de soja são resultantes da interação entre o potencial genético de uma determinada cultivar inserida no ambiente de produção. O clima ou ambiente representa grande influência na produtividade de culturas agrícolas e no potencial produtivo dos sistemas agrícolas. Os principais fatores responsáveis pela variabilidade na produção da cultura da soja no Brasil são os elementos climáticos, sobretudo em sistemas produtivos não irrigados. Além da precipitação pluviométrica, outros elementos meteorológicos, como radiação solar, temperatura e fotoperíodo, influenciam diretamente no crescimento, desenvolvimento e na formação do potencial de produtividade da soja (ZANON et al., 2018).

A cultura apresenta algumas características peculiares na sua adaptação, com relação aos diferentes locais de cultivo, fotoperíodo e temperatura. Os aspectos ambientais são muito relevantes, pois determinam quanto tempo a planta se desenvolve no período vegetativo, o qual tem grande relação com a produção dos grãos. Em casos de floração rápida a planta não desenvolve ramos e folhas suficientes para gerarem grande número de flores e legumes, e em casos de floração retardada, embora contribua com grande massa verde, ocorre também a produção de poucos grãos. Desta forma, o balanço entre os estádios vegetativo e reprodutivo se destaca entre os principais fatores que podem contribuir com a produtividade da cultura (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005).

2.2 Substâncias húmicas e fúlvicas

Também consideradas biofertilizantes, as substâncias húmicas são formadas por ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas. Esses compostos são responsáveis pela estimulação da produção de hormônios vegetais naturais (auxinas, citocininas e giberelinas) que podem afetar positivamente os mecanismos fisiológicos do desenvolvimento vegetal (OLIVEIRA; SOUZA, 2016).

Descritas genericamente como macromoléculas orgânicas heterogêneas, as substâncias húmicas apresentam coloração escura, decorrência do metabolismo de microrganismos. Arquitetadas como supramoléculas, apresentam a propriedade de proveniência de biopolímeros. Esses biopolímeros podem ser bioativos, ou seja, bioestimulantes possibilitando, desta forma, oportunidades tecnológicas para a agricultura (BALDOTTO; BALDOTTO, 2014).

Trevisan e colaboradores (2010) demonstraram que o uso de ácido húmico aumentou o comprimento das raízes primárias e o número de raízes secundárias em plântulas de milho. Oliveira e Souza (2016) observaram que em milho a aplicação do fisioativador, à base de substâncias húmicas, promoveu efeito positivo para a área de superfície de raízes com diâmetro entre 1-2 mm e 2-4,5 mm. Bernardes; Orioli Júnior (2018) verificaram que a aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e ácido fúlvico não influenciou os atributos produtivos da cultura da soja. De acordo com Prado (2014), a aplicação de substâncias húmicas favorece a absorção de micronutrientes, independente da condição de cultivo de soja.

O ácido húmico e o ácido fúlvico são componentes orgânicos encontrados no solo e em materiais orgânicos em decomposição, como húmus e turfa. Ambos desempenham um papel importante na fertilidade do solo e na disponibilidade de nutrientes para as plantas (AMPONG; THILAKARANTHNA; GORIN, 2022).

O ácido húmico é uma substância escura e insolúvel em água. É formado por moléculas maiores e mais complexas em comparação com o ácido fúlvico. O ácido húmico contribui para a formação de agregados do solo, melhorando sua estrutura e aeração. Ele também ajuda a reter a umidade, reduzir a erosão e promover a atividade microbiana benéfica (GOLLENBEEK; VAN DERWEIDE, 2020).

Por outro lado, o ácido fúlvico é uma substância de cor mais clara e solúvel em água. Suas moléculas são menores e mais simples do que as do ácido húmico. O ácido fúlvico desempenha um papel crucial na absorção e transporte de nutrientes nas plantas. Ele pode se ligar a íons metálicos, aumentando sua disponibilidade para as raízes das plantas. Além disso, o ácido fúlvico pode estimular o crescimento das raízes, melhorar a fotossíntese e aumentar a resistência das plantas a estresses ambientais (NARDI et al., 2021).

Tanto o ácido húmico quanto o ácido fúlvico são amplamente utilizados na agricultura como aditivos para melhorar a qualidade do solo e o rendimento das culturas. Eles podem ser aplicados por meio de fertilizantes orgânicos, extratos líquidos ou pós solúveis. No entanto, é importante notar que a eficácia dessas substâncias pode variar dependendo das condições específicas do solo e do tipo de planta cultivada (YANG et al., 2021).

Em resumo, o ácido húmico e o ácido fúlvico desempenham papéis cruciais na fertilidade do solo e no crescimento das plantas. Eles melhoram a estrutura do solo, aumentam a disponibilidade de nutrientes e promovem o desenvolvimento saudável das plantas (AMPONG; THILAKARANTHNA; GORIN, 2022).

Leonardita australiana é uma forma específica de leonardita, um tipo de carvão fóssil altamente oxidado encontrado em depósitos sedimentares. A leonardita australiana é conhecida por ser rica em ácidos húmicos e fúlvicos, substâncias orgânicas valiosas para a agricultura (BHATT; SINGH, 2022).

Devido ao seu alto teor de ácidos húmicos e fúlvicos, a leonardita australiana é valorizada por suas propriedades benéficas para o solo e as plantas. Os ácidos húmicos e fúlvicos presentes na leonardita podem melhorar a estrutura do solo, aumentar a retenção de umidade, estimular a atividade microbiana e promover a absorção de nutrientes pelas plantas (AKINREMI et al., 2000).

2.3 *Bacillus spp.*

Bactérias do gênero *Bacillus* são Gram-positivas e podem ser aeróbias facultativas ou anaeróbias. São resistentes ao calor e a outros agentes destrutivos (STANIER, 1969). Podem

oxidar uma ampla faixa de compostos orgânicos e em alguns casos são fermentativas. A maioria delas tem exigências nutricionais simples, requerendo no máximo alguns aminoácidos ou vitaminas B como fatores de crescimento (STANIER, 1969). Formam endósporos – característica que as coloca entre os esporulados – e apresentam a habilidade de produzir antibiótico (FREITAS; PIZZINATTO, 1997). A formação de endósporos aumenta a resistência aos fatores adversos. Dessa forma, podem ser armazenados, como inoculantes, por um período mais longo, e possuem maior tempo de permanência no solo, além da facilidade de aplicação.

As bactérias do gênero *Bacillus* são habitantes naturais do solo. Essas bactérias formam endósporos e sobrevivem por longos períodos em nichos ecológicos específicos, além de apresentarem diferentes mecanismos de ação para contornar as defesas dos patógenos, tornando-se grandes aliadas no controle biológico (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010). Bactérias do gênero *Bacillus* possuem grande potencial para serem usadas como agentes de controle biológico, pois mantêm sua viabilidade quando estocadas por longos períodos (PETRAS; CASIDA, 1985).

A promoção de crescimento ocasionada por *B. subtilis* é consequência do aumento da fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, síntese de fitormônios e melhoria das condições do solo. Além dos benefícios indiretos pela supressão deste ambiente contra microrganismos maléficos (MANJULA; PODILE, 2005). Adicionalmente, a associação benéfica proporciona o aumento fisiológico de metabolitos que desencadeiam a sensibilidade do sistema radicular as condições externas, proporcionando a facilitação da percepção e absorção de nutrientes (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

Os mecanismos de ação das bactérias do gênero *Bacillus* ainda não foram totalmente elucidados, mas deve-se dar atenção aos componentes resultantes do metabolismo secundário para esclarecer se os benefícios da inoculação partem do microrganismo em si ou de seus metabólitos (ARAÚJO; HENNING; HUNGRIA, 2005).

Um dos entraves para a consolidação do controle biológico a base de *Bacillus* é a formulação para uso comercial (MERTZ; HENNING; ZIMMER, 2009), mas os benefícios desse agente são evidentes, tanto na promoção de crescimento quanto no controle de algumas enfermidades (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

O emprego de *Bacillus*, ou seus metabólitos, poderá contribuir, ainda, com fitormônios e sinais moleculares, incrementando o crescimento das raízes, a nodulação e as taxas de fixação do N₂ e reduzindo a suscetibilidade a estresses hídricos (CATTELAN et al., 1995).

O gênero possui grande potencial biotecnológico e apesar de algumas espécies produzirem toxinas problemáticas a saúde humana e animal, muitas espécies de *Bacillus* podem

ser empregadas na produção de antibióticos, enzimas e outros metabólitos de interesse para indústria farmacêutica, de alimentos e agrícola (BANAT et al., 2000).

Assim, a utilização de espécies de *Bacillus* como promotoras de crescimento e agente de controle biológico para diversas culturas agrícolas, proporciona um método eficiente e ambientalmente menos agressivo que defensivos e fertilizantes químicos, o que torna a prática da utilização de bioagentes uma alternativa mais sustentável no âmbito econômico e ambiental (SHAFI et al., 2017).

2.4 Comunidade microbiana do solo

O desenvolvimento dos microrganismos na camada superficial do solo é altamente favorecido pelas condições que o sistema de plantio direto propicia e neste sistema preconiza o aumento da matéria orgânica e melhor atividade microbiana no solo, fundamental para a fertilidade, pois a diminuição de operações mecânicas no solo diminui os impactos negativos de fatores ambientais. A biomassa microbiana do solo representa a quantidade de carbono na forma viva, e normalmente sua atividade é superior nas camadas superficiais do solo quando comparadas com o preparo convencional do solo (SCHNEIDER, 2007).

No plantio direto ocorre maior retenção de carbono e nitrogênio orgânicos no solo, aumento da agregação das partículas, maior preservação dos resíduos na superfície como palhada e reestruturação do solo, e com a rotação de cultura gera como efeito aumento na fauna e biomassa microbiana do solo (VENZKE FILHO, 2003).

A comunidade microbiana pode ser afetada de maneira direta com as alterações que ocorrem no pH do solo e na disponibilidade de nutrientes, ou de maneira indireta pela neutralização de elementos tóxicos e disponibilidade de nutrientes (OLIVEIRA, 2004).

As interações benéficas ou antagônicas dos próprios microrganismos também podem influenciar modificações no equilíbrio dinâmico das populações na comunidade microbiana do solo, determinando assim, a composição qualitativa e quantitativa da comunidade. O conhecimento desse equilíbrio e dos efeitos das práticas agrícolas sobre as populações na comunidade microbiana é importante, devido às inúmeras funções que esses microrganismos desempenham (PEREIRA et al, 1999). Eles podem estar presentes tanto no solo não rizosférico como na rizosfera, onde irão realizar processos metabólicos relevantes para o crescimento das plantas (MERCANTE, et al, 2008).

A comunidade microbiana é sensível as variações e toda atividade antrópica em agrossistemas influencia na qualidade do solo, a qual pode ser avaliada por bioindicadores da

qualidade do solo (COSTA et al, 2014). Uma vez que a microbiota afeta, direta e indiretamente, a produtividade agrícola, o conhecimento dos processos em que a biomassa microbiana está envolvida torna-se de extrema importância para um manejo adequado do solo, almejando à sua produtividade e conservação (VARGAS; SCHOLLES, 2000).

Para avaliar a atividade microbiana, parâmetros microbiológicos como carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS); Respiração basal (RBS); Quociente metabólico (qCO_2) e Quociente microbiano ($qMIC$) são avaliados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido a campo em LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico típico no município de Itambaracá (PR), que se localiza a latitude 22° 58' 16,2" S e longitude 50° 28' 59,9" W, com altitude de 420 m acima do nível do mar, A classificação do clima é Cfa (Köppen e Geiger) subtropical úmido, A área apresenta histórico de sistema de ausência de preparo para cultivo de soja e milho, com as seguintes características químicas (Tabela 1) e microbiológicas (Tabela 2).

Tabela 1. Análise química do solo pré-plantio

M.O g Kg ⁻¹	pH CaCl ₂	P mg dm ⁻³	K	Ca	Mg molc dm ⁻³	H+Al	CTC	V %
25,1	4,6	14,9	0,6	5,8	1,3	5,1	12,8	59,7

Dados: M.O (Matéria Orgânica); P (Fósforo); K (Potássio); Ca (Cálcio); Mg (Magnésio); H+Al (Acidez potencial); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); V% (Saturação de Base);

Tabela 2. Análise microbiológica do solo pré-plantio

SOLO	C.O.T g Kg ⁻¹	CBMS mg C Kg ⁻¹ solo	RBS mg de C-CO ₂ Kg ⁻¹ . h ⁻¹	qCO ₂ RBS/BMS	qMIC %
Inicial	16,10	44,05	0,31	7,14	0,27

Dados: (C.O.T) = Carbono Orgânico Total; (CBMS) = Carbono da Biomassa Microbiana do Solo; (RBS) = Respiração Basal; (qCO₂) = Quociente metabólico; (qMIC) = Quociente Microbiano.

3.2 Delineamento Experimental

A ensaio foi realizado no período de outubro de 2021 a março de 2022 em uma área total de 4.200 m², sendo que cada tratamento possuiu parcelas com área de 700,0 m² (10,0 metros de largura por 70,0 metros comprimento) distribuído no delineamento de parcelas em faixa. Em cada parcela 5 amostras de solo foram coletadas entre as linhas de plantio, utilizando trado de rosca na profundidade de 0 – 10 cm para análises microbiológicas e 0 – 20 cm para análises químicas, sendo que cada amostra era constituída de 10 subamostras que foram unidas em um balde e homogeneizadas para ser retirada cada amostra principal. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos e transportadas em caixa térmica para que não perdesse as características do solo coletado, e para evitar qualquer tipo de interferência posterior nas análises. As amostradas foram levadas no mesmo dia ao Laboratório de Microbiologia do Solo, da UENP/CLM.

A semeadura de soja foi realizada no dia 09/10/2021, com variedade HO Pirapó

(64HO114 Pró), com hábito de crescimento indeterminado com biotecnologia IPRO (Intacta), com espaçamento de 0,45 cm entre linhas com uma população 311.111,11 sementes por hectares com um stand de 14 plantas por metro linear, resultando em um stand após emergência com média de 12,8 plantas por metro linear. Adubação de base de 250 kg ha⁻¹ do formulado 02-20-18 e foi utilizado uma semeadora da marca Planti Center PC-9/8 Geração 3.

As aplicações foram realizadas no dia 11/10/2021 utilizando um equipamento de pulverização composto por cilindro de CO₂, frascos com capacidade de 2 litros e uma barra de pulverização de 2 metros de largura contendo 4 pontas de pulverização. Utilizou-se um volume de calda de 8,4 litros de calda por parcela resultando 120 litros de calda por hectare, com aplicação de cobertura total sem direcionamento. Não houve diferença de tratos culturas entre as parcelas.

Tabela 3 Descrição dos tratamentos do ensaio soja safra 2021/2022.

TRAT.	Descrição	Concentração UFC mL ⁻¹	Dose L ha ⁻¹	
			BAC	AHF
T	Testemunha	-	-	-
BAC	<i>Bacillus</i> sp. isolado	1x10 ⁹	0,3	0,0
AHF1	Húmicos e Fúlvicos	-	0,0	2,0
AHF2	Húmicos e Fúlvicos	-	0,0	4,0
AHF1+BAC	HF + <i>Bacillus</i> sp.	1x10 ⁹	0,3	2,0
AHF2+BAC	HF + <i>Bacillus</i> sp.	1x10 ⁹	0,3	4,0

Dados: [BAC] = *Bacillus* sp.; AHF 1 e AHF 2 – Produto comercial Croptec Humic - Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 2 e 4 L ha⁻¹

A coleta do solo para análises químicas e microbiológicas foi realizada pós emergência no estágio de pleno florescimento (R2). Nas avaliações químicas foram realizadas as análises para macronutrientes, matéria orgânica e pH. Nas análises microbiológicas foram avaliados Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), Respiração basal (RBS), Quociente metabólico (qCO_2) e Quociente microbiano ($qMIC$).

A colheita de soja foi realizada no dia 17/02/2022, as 06 áreas foram colhidas, separadas e pesadas para obtermos resultados de produtividade. No momento da colheita os grãos estavam com 19% de umidade determinado após coletar uma porção de 400 gramas e levada a Cooperativa Integrada para determinação da umidade e posteriormente corrigida para umidade de 14% para determinar o peso líquido de comercialização padrão.

3.3 Atributos Químicos e Microbiológicos do Solo

3.3.1 Determinação de pH e Nutrientes

Após secar as amostras de solo ao ar acondicionadas em bandejas, foram determinados o pH em CaCl_2 0,01 M, P, Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , e Al^{3+} . Os teores de Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} foram extraídos com KCl 1 N e determinados por absorção atômica (Ca^{2+} e Mg^{2+}) e titulação com NaOH 0,025 M (Al^{3+}); P e K^+ foram extraídos com o extrator Mehlich-1 e determinados por espectrofotometria de

3.3.2 Determinação de Matéria Orgânica

O teor de matéria orgânica foi determinado em razão da perda de massa do resíduo incinerado, considerando-se o material perdido pela queima no intervalo de variação da temperatura de 105 °C a 550 °C, conforme a fórmula: $\text{MO} (\%) = (P - (T - C) \times 100) / P$, em que P = peso da amostra (g) depois de aquecida a 105 oC; C = tara

3.3.3 Determinação da Saturação por bases

Denomina-se saturação por bases (V%) a soma das bases trocáveis expressa em porcentagem de capacidade de troca de cátions:

$$V (\%) = 100 \times \frac{SB}{CTC^{(*)}}$$

Onde:

SB = soma de bases

CTC = capacidade de troca catiônica

(*) na fórmula utiliza-se o valor da “CTC total” (EMBRAPA, 2010).

3.3.4 Determinação do Carbono Orgânico Total (COT)

O valor do COT foi calculado com base no volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação dos brancos e da amostra. A partir da equação pode-se determinar a quantidade de carbono orgânico total da amostra em dag kg^{-1} (MENDONÇA & MATOS, 2005).

$$COT = \frac{A \times MSF \times 3 \times 100}{P_a}$$

Onde:

A - Volume calculado (mL);

MSF - Molaridade do Sulfato Ferroso (mol L^{-1}), e

P_a - Peso da amostra (mg).

3.3.5 Determinação da Biomassa de Carbono Microbiano (C_BMS)

O carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) foi determinado pelo método de fumigação-extração indireta (FEI) proposta por Silva et al. (2007a).

A determinação do teor de CBMS foi realizado por titulometria (WALKLEY; BLACK, 1934, modificado por TEDESCO et. al., 1995) foram transferidos 8 mL dos extratos filtrados para erlenmeyers de 250 mL, adicionando 2 mL de solução de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 0,066 M e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) P.A.

Onde a determinação do carbono dos extratos fumigados e não fumigados foi calculado de acordo com a equação abaixo:

Equação:

$$C_{(mgC\ Kg^{-1} solo)} = \frac{V_b - V_a \cdot M \cdot 0,003 \cdot V_1 \cdot 10^6}{P_s \cdot V_2}$$

onde:

C = carbono extraído do solo;

V_b (mL) = volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da solução controle (branco);

V_a (mL) = volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da amostra;

M = molaridade exata do $(\text{NH}_4)_2 \text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;

V_1 (mL) = volume do extrator (K_2SO_4) utilizado;

0.003 = miliequivalente do carbono

P_s (g) = massa de solo seco.

Por meio da subtração entre os teores de carbono do solo fumigado e não fumigado, pode-se obter o carbono da biomassa microbiana, sendo calculado conforme a equação abaixo:

$$BMS_{(mg\ Kg^{-1})} = \frac{FC}{kC}$$

onde:

BMS = biomassa de carbono microbiano do solo em mg de C por kg de terra (ou $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$);

FC = fluxo obtido da diferença entre a quantidade de C (mgkg^{-1}) recuperada no extrato da amostra fumigada e a recuperada na amostra não fumigada;

k_c = fator de correção.

O fator de correção (k_c) em situações que exijam maior exatidão deverá ser calculado para cada tipo de solo. Como para os solos do Brasil o fator ainda não foi determinado, pode-se utilizar o valor 0,33 preconizado por Sparling; West (1988), a fim de expressar a fração do C da BMS recuperada após o processo de fumigação-extração.

3.3.6 Determinação da Respiração Basal do Solo (RBS)

Segundo a Embrapa (2007), o cálculo da respiração basal do solo é dado pela Equação abaixo:

$$RBS_{(mg\ de\ C-CO_2\ Kg^{-1}\ solo\ h^{-1})} = \frac{(V_b - V_a) \cdot M \cdot 6.1000}{\frac{P_s}{T}}$$

Onde:

RBS – Carbono oriundo da respiração basal do solo;

V_b (mL) – Volume de ácido clorídrico 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 e

T – Tempo de incubação da amostra em horas.

3.3.7 Determinação do Quociente Metabólico do solo (qCO_2)

O qCO_2 é a razão entre a respiração basal do solo por unidade de carbono da biomassa microbiana do solo conforme descrito por SILVA et al., (2007), e tem sido usado para estimar eficiência do uso de substrato pelos microrganismos do solo, podendo ser utilizado como sensível indicador de estresse quando a C_BMS é afetada. O cálculo qCO_2 da respiração basal do solo é dado pela equação abaixo:

$$qCO_{2(mg\ C-CO_2\ g^{-1}\ BMS-C\ h^{-1})} = \frac{RBS_{(mg\ C-CO_2\ Kg^{-1}\ solo\ h^{-1})}}{BMS - C_{(mg\ C\ Kg^{-1}\ solo)} \times 10^{-3}}$$

Onde:

qCO_2 – Quociente metabólico do solo;

RBS – Respiração basal do solo e

BMS-C – Carbono da biomassa microbiana do solo.

O quociente metabólico (qCO_2) é a razão entre a respiração basal e a biomassa microbiana do solo por unidade de tempo (ANDERSON; DOMSCH, 1993). Ele expressa quanto de CO_2 é liberado pela biomassa microbiana em função do tempo, representando a taxa de respiração específica da biomassa microbiana (ALVES et al., 2011).

3.3.8 Determinação do Quociente Microbiano ($qMIC$)

O quociente microbiano ($qMIC$) representa a relação entre o carbono da biomassa microbiana (BMS-C) e o carbono orgânico total (COT). Essa relação tem sido utilizada como indicador da qualidade da matéria orgânica do solo, indicando a quantidade de carbono orgânico que está imobilizado na biomassa e demonstrando, ainda, a eficiência dos microrganismos na utilização dos compostos orgânicos (SILVA et al., 2010).

O $qMIC$ reflete o percentual de reserva do carbono orgânico total no solo, e pode-se perceber que áreas com baixa atividade microbiana apresentam baixos valores de quociente microbiano, indicando menor reserva de compostos orgânicos nessas áreas (CARNEIRO et al., 2009). Altos índices de $qMIC$ indicam que a matéria orgânica do solo é ativa e está sujeita a ser decomposta pela microbiota.

3.4 Avaliação agronômica

Foram realizadas avaliações agronômicas durante o desenvolvimento da cultura. Aos 07, 14 e 21 dias após plantio, sendo avaliado o estande de plantas. No estágio vegetativo R2, foram coletadas 10 plantas por parcelas para determinar massa fresca e seca de parte aérea, raiz e nódulos. As plantas foram pesadas “in loco” (parte aérea e raiz) para determinar a massa fresca e para determinação da massa seca as plantas foram acondicionadas em saco de papel e incubado em estufa de circulação de ar forçada a 60 °C, até a obtenção de peso constante.

A produtividade foi determinada pela colheita de plantas em 3 linhas de 1 metro, perfazendo total de 7 subamostras por parcelas.

3.5 Análise Estatística

Os resultados dos atributos químicos e microbiológicos obtidos foram submetidos à análise de variância e aplicado o Teste de Tukey e os resultados dos parâmetros agronômicos foram submetidos a Teste T e Teste de Scott-Knott para produtividade, para a comparação das

médias ao nível de 5,0% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos parâmetros químicos, destacam-se o aumento do teor de matéria orgânica no solo em tratamentos com aplicação pulverizada em área total da parcela de 4 L ha⁻¹ sem e com inoculação de *Bacillus* sp. (Tabela 4), tal aumento refletiu no aumento da biomassa microbiana sem a inoculação de *Bacillus* sp. com a presença da bactéria notou-se que houve competição com a bactéria inoculada e a biota nativa, no entanto a biomassa foi maior que a testemunha (Tabela 5). Os demais parâmetros químicos estão dentro do bom manejo solo para cultura da soja. No entanto, comparando com análise do solo inicial (Tabela 1) e a análise no pleno florescimento, observa-se uma melhora considerável na fertilidade do solo com o uso de substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos, melhora no CTC e também na saturação de bases. De acordo com Ponce (2022), os efeitos da aplicação das substâncias húmicas na produção vegetal e na absorção de nutrientes, dependem da fonte de origem as substâncias húmicas e fúlvicas e da concentração. Em altas concentrações de ácidos húmicos, desenvolvem plantas mais tolerantes a estresse, produtivas e saudáveis (AMPONG et al., 2022).

Tabela 4. Análise química realizada no estágio de pleno florescimento (R1-2) na cultura da soja.

TRAT	M.O g Kg ⁻¹	pH (*) CaCl ₂	P (*) mg dm ⁻³	K (*) ----- molc dm ⁻³	Ca (*) ----- molc dm ⁻³	Mg (*) ----- molc dm ⁻³	H+Al	CTC(*)	V %
TEST	27,8 c	5,5	14,5	0,7	7,2	1,2	6,5 a	15,6	58,6 b
BAC	28,1 bc	5,2	12,6	0,7	7,4	1,3	5,9 ab	15,3	61,2 ab
AHF1	27,1 c	5,3	31,5	0,7	7,5	1,3	5,6 b	15,1	62,8 a
AHF2	29,8 ab	5,5	19,0	0,7	7,5	1,2	5,7 b	15,1	62,5 a
AHF1+BAC	28,9 bc	5,1	17,3	0,7	7,4	1,3	5,8 b	15,2	62,0 a
AHF2+BAC	30,8 a	5,2	25,0	0,7	7,6	1,3	6,0 ab	15,6	61,6 ab
C.V (%)	3,55	5,17	59,28	32,71	3,05	4,70	4,94	2,37	2,56

Dados: M.O (Matéria Orgânica); P (Fósforo); K (Potássio); Ca (Cálcio); Mg (Magnésio); H+Al (Acidez potencial); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); V% (Saturação de Base); [TEST] = Testemunha; [BAC] = *Bacillus* sp.; [AHF1] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 2 L ha⁻¹; [AHF2] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 4 L ha⁻¹; [AHF1+BAC] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 2 L ha⁻¹ + *Bacillus* sp.; [AHF2+BAC] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 4 L ha⁻¹ + *Bacillus* sp. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; (*) Não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Diante dos resultados obtidos com a análise química do solo no estágio R2 da soja verificou-se diferença nos teores de P (melich⁻¹ mg dm⁻³) no solo, decorrentes da aplicação das substâncias húmica e fúlvicas. O aumento constatado no teor de P disponível no solo pode ter ocorrido em decorrência da capacidade das substâncias húmicas e fúlvicas de atuarem como agentes complexantes. Segundo Caron et al. (2015), as substâncias húmicas e fúlvicas podem

promover incremento no teor de fósforo solúvel através da complexação de Fe^{+2} e Al^{+3} (solos ácidos) e do Ca^{+2} (solos alcalinos). Com a possível utilização biofertilizantes a base de ácidos húmicos e fúlvicos em longo prazo esperasse que sejam observados aumentos nos teores de outros elementos no solo. LI et al., (2019) avaliando os efeitos da aplicação de ácidos húmicos e fúlvicos sob cultivo contínuo de amendoim em três anos consecutivos, constataram aumentos nos teores N, P e K totais e disponível e nos teores de matéria orgânica, sendo verificado o efeito máximo no terceiro ano de aplicação de substâncias húmicas e fúlvicas.

Nos atributos microbiológicos observou-se que todos os tratamentos apresentaram aumento da biomassa microbiana do solo (CBMS), demonstrando aumento da população microbiana. O uso de substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos combinados ou não com bactérias não provocaram estresse metabólico ($q\text{CO}_2$) ficando nos mesmos níveis da testemunha (7,19), o que se nota um aumento somente na aplicação da bactéria *Bacillus* sp. o aumento no quociente metabólico (11,84) (Tabela 5). A atividade microbiana ($q\text{MIC}$) avaliada no ensaio, demonstrou melhora da atividade microbiana em decompor e mineralizar a matéria orgânica do solo em todos os tratamentos, com destaque para o tratamento AHF2 (0,99). Os grupos funcionais das substâncias húmicas e fúlvicas favorecem o crescimento e incremento de biomassa das plantas, assim como o aumento em número de frutos, acarretando em um aumento de produtividade das culturas (HALPERN et al., 2015)

Tal melhora nos atributos microbiológicos no uso de rizobactérias e especialmente de substâncias com base a ácidos húmicos e fúlvicos nas doses 2 e 4 L ha⁻¹ combinados ou não com *Bacillus* sp. demonstrou aumento na população e atividade microbiana no solo (Tabela 5), quando comparado as condições iniciais antes do plantio (Tabela 2).

Tabela 5. Análise dos atributos microbiológicos dos solos no estágio de pleno florescimento da cultura da soja.

TRAT	C.O.T g Kg ⁻¹	CBMS mg C Kg ⁻¹ solo	RBS mg de C-CO ₂ Kg ⁻¹ . h ⁻¹	$q\text{CO}_2$ RBS/BMS	$q\text{MIC}$ %
TEST	16,14 c	52,89 d	0,38 d	7,19 c	0,33 d
BAC	16,30 bc	94,92 c	1,03 b	11,84 a	0,53 c
AHF1	16,74 abc	133,35 b	0,99 bc	7,50 c	0,80 b
AHF2	17,85 a	176,01 a	1,36 a	7,71 bc	0,99 a
AHF1+BAC	15,71 c	137,11 b	1,26 a	9,22 b	0,87 ab
AHF2+BAC	17,30 ab	96,42 c	0,76 c	7,91 bc	0,56 c
C.V (%)	3,55	7,79	12,19	10,29	9,19

Dados: Carbono Orgânico Total (C.O.T); Carbono da Biomassa Microbiana do Solo (CBMS); Respiração Basal (RBS); quociente metabólico do solo quociente ($q\text{CO}_2$); quociente Microbiano ($q\text{MIC}$); [TEST] = Testemunha; [BAC] = *Bacillus* sp.; [AHF1] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 2 L ha⁻¹; [AHF2] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 4 L ha⁻¹; [AHF1+BAC] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 2 L ha⁻¹ + *Bacillus* sp.; [AHF2+BAC] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 4 L ha⁻¹ + *Bacillus* sp. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A melhora nas condições microbiológica do solo e na matéria orgânica do solo, refletiu nos parâmetros agrônômico da planta soja, demonstrando aumento na massa seca da parte aérea nos tratamentos com substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos nas duas doses avaliadas combinadas com *Bacillus* sp. (13,1% e 18,42% respectivamente), apesar de estatisticamente ser iguais a testemunha (Tabela 6).

Derivados de leonardita alterou a estrutura do microbioma do solo cultivado em condições de casa de vegetação. Plantas tratadas com ácidos húmicos apresentaram maior diversidade e riqueza microbiana, com predominância de Proteobactéria, causando impacto benéfico no crescimento da planta (HITA et al., 2020).

Inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e ácidos húmicos regulam genes relacionados a proteção vegetal e estresse oxidativo. Essas mudanças metabólicas adaptativas podem diminuir o estresse da planta em condições de estresse biótico e abiótico (GALAMBOS, et al., 2020). Esta combinação é benéfica pois induz a proteção secundário e promove o crescimento da planta.

Em uso prolongado de ácidos húmicos em agricultura altera a atividade enzimática do solo, e a estrutura da comunidade microbiana do solo, aumentando a população de bactérias e fungos benéficos (LI et al., 2019). As plantas desencadeiam produção de fitohormônios, causando alterações no crescimento da raiz e da parte aérea, e rizodeposição que irão então influenciar a microbiota na composição da comunidade do sistema solo-planta.

No parâmetro raiz, não foi observado grandes variações no peso seco da raiz, fato este explicado pela extrema dificuldade na retirada da raiz em solo argiloso, no entanto observa-se diferença significativa entre tratamento BAC e AHF1. O tratamento com bactérias apresentar maior massa seca pode estar relacionado a maior massa seca dos nódulos (Tabela 6). No entanto, a maior nodulação não foi refletida na produtividade (54,7 sacas ha⁻¹). A maior produtividade foi observada nos tratamentos com substâncias húmicas e fúlvicas na dose de 4 L ha⁻¹ com e sem *Bacillus* sp. (4.381,63 e 4.133,19 kg ha⁻¹ respectivamente), com aumento de 14 e 10 sacas ha⁻¹ respectivamente comparado a testemunha (Tabela 6). CARON et al. (2015) afirmaram que as substâncias húmicas podem ser usadas como insumos, tendo por finalidade condicionar positivamente o solo, melhorando o desenvolvimento das culturas onde é usado, principalmente do sistema radicular.

Estes mesmos autores relatam que as substâncias húmicas podem causar efeitos benéficos como, maior crescimento radicular, maior efetividade a absorção de nutrientes e na produtividade na parte aérea da planta através de processos como a sinalização hormonal e alterações metabólicas (CARON; GRAÇAS; CASTRO, 2015). Catuchi et al. (2016), observou

em seu experimento que com relação a matéria seca da parte aérea das plantas de soja coletadas no florescimento, a aplicação de ácido húmico e ácido fúlvico no solo e a matéria seca foi superior em relação à testemunha. (ROZATTI et al, 2022).

Tabela 6. Parâmetros agrônômico da planta soja (parte aérea, raiz, nódulos e produtividade).

TRAT	MSPA	MSR	MNOD	PRODUTIVIDADE	
	g	g	g	Kg ha ⁻¹	Saca ha ⁻¹
TEST	21,22 ab	2,60 ab	0,19 bc	3.523,37 b	58,72
BAC	20,18 b	2,71 a	0,28 a	3.286,22 b	54,77
AHF1	21,35 ab	2,23 b	0,20 bc	3.704,06 b	61,73
AHF2	22,29 ab	2,31 ab	0,17 c	4.133,19 a	68,89
AHF1+BAC	24,06 ab	2,57 ab	0,25 ab	3.478,20 b	57,97
AHF2+BAC	25,13 a	2,30 ab	0,15 c	4.381,63 a	73,03
C.V (%)	18,64	16,19	34,71	16,50	—

Dados: [MSPA] = Massa seca da parte aérea; [MSR] = Massa seca de raiz; [MNOD] = Massa dos nódulos; [TEST] = Testemunha; [BAC] = *Bacillus* sp.; [AHF1] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 2 L ha⁻¹; [AHF2] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 4 L ha⁻¹; [AHF1+BAC] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 2 L ha⁻¹ + *Bacillus* sp.; [AHF2+BAC] = Substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos na dose 4 L ha⁻¹ + *Bacillus* sp. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de T a 5% de probabilidade para os parâmetros agrônômicos (MSPA, MSR, MNOD) e Scott Knott para produtividade.

A nutrição das plantas, bem como a fertilidade do solo, se destaca entre os fatores que estão diretamente relacionados com o sucesso no cultivo e produtividade, constituem-se no manejo dos nutrientes considerados essenciais para o crescimento destas. A exigência nutricional da soja e o potencial de exportação da cultura são características determinadas por fatores genéticos, porém influenciados por fatores climáticos, pela fertilidade do solo e pelo manejo cultural (OLIVEIRA et al., 2019).

Sabendo-se da importância dos nutrientes às plantas e seus efeitos no desenvolvimento e produtividade, a procura por estimulantes que possam contribuir para a melhor absorção de nutrientes na busca de maior produtividade tem se tornado alvo de muitos estudos. Os biofertilizantes, biorreguladores, bioestimulantes e bioativadores são citados como os principais estimulantes capazes de promover efeitos importantes nas plantas, estimulando a comunidade microbiana do solo de forma a alterar o desenvolvimento e a produtividade dos cultivos (MORZELLE et al., 2017).

Outra forma de inclusão dos estimulantes no manejo das culturas citado em alguns estudos é a aplicação foliar. Segundo Bertolin et al. (2010), a utilização desses produtos na cultura da soja, proporciona incremento no número de vagens por planta e produtividade de grãos tanto em aplicação realizada por meio do tratamento de sementes quanto a aplicação foliar.

Outra forma de inserção de estimulantes no manejo da cultura da soja é a aplicação via sulco de semeadura, porém o assunto é abordado com menos frequência na literatura quando

comparado ao tratamento de sementes e aplicação foliar. Todavia, pesquisas vêm sendo realizadas buscando alternativas para substituição ao método tradicional de tratamento de sementes. A aplicação no sulco de semeadura é realizada através de pontas de pulverização acopladas na semeadora, simultaneamente à deposição das sementes no sulco de semeadura aberto no solo (SANTOS et al., 2018).

Estudos que relatam informações referentes à aplicação via sulco de semeadura aparecem com mais facilidade na cultura da batata e na cana-de-açúcar (BETTONI et al., 2008), em comparação com a cultura da soja (SANTOS et al., 2017a). Marques et al. (2013), observaram que a aplicação de bioestimulante em sulco de semeadura proporcionou incrementos nas produtividades agrícolas de colmos de cana-de-açúcar. Na cultura do milho, Dourado Neto et al. (2014) relataram que ocorreu maior número médio de grãos por espiga com a aplicação de bioestimulante, seja por meio do tratamento de sementes ou na aplicação via sulco de semeadura.

Os produtos a base de ácidos húmicos podem aumentar a capacidade de retenção de nutrientes do solo, melhorando a ciclagem de nutrientes dentro diferentes compartimentos da matéria orgânica do solo, bem como a troca de nutrientes dissolvidos na água nos poros do solo (AMPONG et al., 2022). Como os aditivos orgânicos podem atuar como fertilizantes de liberação lenta, esta situação benéfica poderia ser mantida por longos períodos de tempo, em contraste com os fertilizantes minerais sozinhos. O uso combinado de ácido húmico e fertilizantes inorgânicos aumenta o rendimento e qualidade da planta a longo prazo (LI et al., 2019). Os ácidos húmicos aliviam os problemas associados ao sistema de cultivo contínuo. Na presença destes, aumenta os níveis de NPK disponível para plantas, e matéria orgânica no solo, resultando em maior absorção de NPK pela planta. Além disso, melhorias na qualidade físico-química do solo, leva o crescimento da planta pela melhoria na diversidade microbiana e atividades enzimáticas do solo (LI et al., 2019).

Ressalta a importância do uso de substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos aplicado via solo para uma melhora da microbiota e com consequência as propriedades físicas e químicas.

5 CONCLUSÃO

As substâncias a base de ácidos húmicos e fúlvicos influenciaram de forma positiva os atributos químicos e microbiológicos avaliados, observando-se principalmente a melhora no teor de matéria orgânica, fato este que influenciou de forma direta na biomassa e atividade microbiana do solo, e conseqüentemente a decomposição e mineralização da matéria orgânica, melhorando a eficiência na disponibilização de nutriente a planta, fato este, refletindo na produtividade da cultura soja.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINREMI, O. O., JANZEN, H. H., LEMKE, R. L., AND LARNEY, F. J. Response of canola, wheat and green beans to leonardite additions. **Can. J. Soil Sci.** 80, 437–443., 2000. doi: 10.4141/S99-058

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**, Maringá, v. 33, n. 2, 2011.

AMPONG, K.; THILAKARANTHNA, M. S.; AND GORIM, L. Y. Understanding the role of humic acids on crop performance and soil health. **Front. Agron.** 4, 10. doi: 10.3389/fagro.2022.848621, 2022.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil. Biol. Biochem.**, 25:393-395, 1993.

ARAÚJO, F.F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v.21, p.1639-1645, 2005.

BALDOTTO, M. A.; BALTOTTO, L. E. B. Ácidos húmicos. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, Suple., p. 856-881. nov./dez. 2014.

BANAT, I. M.; MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. Potential commercial applications of microbial surfactants. **Applied microbiology and biotechnology**, Boston, v. 53, n. 5, p. 495-508, May. 2000.

BERNARDES, J. V. S.; ORIOLI JUNIOR, V. Aplicação foliar de ácido fúlvico e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. In: **II SEMINÁRIO DE PESQUISA E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA**, 2., 2018, Minas Gerais. Anais [...]. Uberaba: Seminário de Pesquisa e Inovação Tecnológica, 2018. Disponível em: <http://periodicos.iftm.edu.br/index.php/sepit/article/viewFile/631/312>. Acesso: 05 de nov. de 2022.

BERTOLIN, D. C. et al. Aumento da produtividade de soja com a aplicação de bioestimulantes. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.2, p. 339-347. 2010.

BETTONI, M. M; ADAM, W. M.; MÓGOR, A. F. Tuberização de batata em função da aplicação de extrato de alga e cobre. **Horticultura Brasileira**, [S.I.]:, v. 26, n. 2, p. 5256-5260, jul./ago. 2008.

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

CARMELLO, Q. A. C.; OLIVEIRA, F. A. Nutrição de lavouras de soja: situação atual e perspectivas. **Visão Agrícola**, [S.I.], v.1, n.5, p. 8-11, jan./jun. 2006.

CARON, V. C.; GRAÇAS, J. P.; CASTRO, P. R. C. **Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2015.

CATTELAN, A. J.; SPOLADORI, C. L.; HENNING, A. A. **Efeito do tratamento de sementes de soja com fungicidas recomendados sobre a fixação do nitrogênio atmosférico e a sobrevivência do *Bradyrhizobium japonicum* em casa de vegetação**. In: HUNGRIA, M.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. (Eds.). Microbiologia do solo: desafios para o século XXI. Londrina: Iapar/Embrapa CNPSo, 1995. p.398-402.

CATUCHI, T. A.; PERES, V. J. S.; BRESSAN, F. V.; ARANDA, E. A.; SILVA, A. P. L. Desempenho produtivo da cultura da soja em razão da aplicação ácido húmico e fúlvico na semeadura e via foliar. **In:Colloquium Agraria**, 2016. p. 36-42

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Evolução de produção de soja no Brasil**. Brasília: Conab, 2022.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Evolução dos custos de produção de soja no Brasil**. Brasília: Conab, v. 2, 2016.

COSTA, G. D.; SILVA, M. A. A.; DEMETRIO, G. B.; SILVA M. A.; MATSUMOTO, L. S. Influência da adubação nos atributos microbiológicos do solo na produção de milho silagem. **Synergismus scyentifica**, UTFPR, Pato Branco, 2014.

DALL'AGGNOL, A. **A Embrapa Soja no contexto do desenvolvimento da soja no Brasil: histórico e contribuições**. Brasília: Embrapa, v.2, 2016.

DOURADO NETO, D. et al. Ação de bioestimulante no desempenho agrônômico de milho e feijão. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 371-379, jun. 2014.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para regiões tropicais**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, nº8, novembro de 2010.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Soja em números (safra 2021/2022)**. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso: 12 de jan. de 2023.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019.

FREITAS, S. S; PIZZINATTO, M. A. Ação de rizobactérias sobre a incidência de *Colletotricum gossypii* e promoção de crescimento de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) **Summa Phytopathologica.**, v. 23, p.36-41, 1997.

GALAMBOS, N., COMPANT, S., MORETTO, M., SICHER, C., PUOPOLO, G., WÄCKERS, F. Humic acid enhances the growth of tomato promoted by endophytic bacterial strains through the activation of hormone-, growth-, and transcription-related processes. **Front. Plant Sci.** 11, 582267. doi: 10.3389/fpls.2020.582267, 2020.

GOLLENBEEK, L., AND VAN DER WEIDE, R. Prospects for Humic Acid Products From Digestate in the Netherlands. **Report WPR-867**, 5–40, 2020. doi: 10.18174/541280

HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MULLER, T.; YERMIYAHU, U. **Chapter two -The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. Advances in Agronomy**, v. 130, p. 141-174, 2015.

HITA, D.; FUENTES, M.; ZAMARREÑO, A. M.; RUIZ, Y.; GARCIA-MINA, J. M. Culturable bacterial endophytes from sedimentary humic acid-treated plants. **Front. Plant Sci.** 11, 837. doi: 10.3389/fpls.2020.00837, 2020.

IAC – Instituto Agronômico de Campinas. **Soja e Agrônomo, história de sucesso! O Agrônomo**, Campinas, v.52, n. 2, p. 35. 2000.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica. Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, p. 12-20, 2010.

LI, Y.; FANG, F.; WEI, J.; WU, X.; CUI, R.; LI, G.; ZHENG, F.; TAN, D. Humic acid fertilizer improved soil properties and soil microbial diversity of continuous cropping peanut: a three-year experiment. **Scientific reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019.

LOPES, J. A. M.; PELÚZIO, J. M.; MARTINS, G. S. Teor de proteína e óleo em grãos de soja, em diferentes épocas de plantio para fins industriais. **Tecnologia. & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 49-53, maio. 2016.

MANJULA, K.; PODILE, A. R. Increase in seedling emergence and dry weight of pigeon pea in the field with chitin-supplemented formulations of *Bacillus subtilis* AF 1. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.21, p.1057–1062, 2005.

MARQUES, M. O. et al. Bioestimulante vegetal em cana-de-açúcar. **Agroenergia**, Ribeirão Preto, v.1, n.1, p. 1-8, jun. 2013.

MENDONÇA, E. D. S.; MATOS, E. D. S. **Matéria Orgânica do solo: métodos de análises**. Viçosa: UFV, 2005.

MERCANTE, M.F.; SILVA, F. R.; FRANCELINO, F. C. S.; CAVALHEIRO, T. J. C.; OTSUBO, A. A. Biomassa microbiana, em um Argissolo Vermelho, em diferentes, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.30, n.4, p. 479-485, 2008.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 13-18, 2009.

MORZELLE, M. C. et al. **Agroquímicos estimulantes, extratos vegetais e metabólicos microbianos na agricultura.**: Série produtor rural – nº63. 1. ed. Piracicaba: ESALQ – Divisão de biblioteca, 2017. 96 p.

MUNDSTOCK, C. M.; THOMAS, A. L. Soja: **Fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos.** 1. ed. Porto Alegre: Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Evangraf, 2005. 31 p.

NARDI, S.; SCHIAVON, M.; FRANCIOSO, O. Chemical structure and biological activity of humic substances define their role as plant growth promoters. **Molecules** 26, 2256, 2021. doi: 10.3390/molecules26082256

OLIVEIRA, V. C. **Atividade enzimática, população e análise de DNA da biodiversidade microbiana do solo em agroecossistemas do Semi-Árido.** 2004. 108f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2004.

OLIVEIRA, F. A. et al. **Exigências minerais e adubação.** Embrapa. 2019. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01_38_271020069132.html. Acesso: 27 de jan. de 2022.

OLIVEIRA, N. T.; SOUZA, S. Bioestimulantes à base de substâncias húmicas e aminoácidos promovem o aumento do crescimento de plântulas de milho. **Saberes**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p.78-83, 2016.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Dinâmica das populações bacterianas em solos de Cerrados. **Pesq. agropec. bras.** [online]. v.34, n.5, p. 801-811, 1999.

PETRAS, S. F.; CASIDA, L. E. J. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 50, p. 1496-1501, 1985.

POOJA BHATT, P.; SINGH, V. K. Effect of humic acid on soil properties and crop production– A review. **Indian Journal of Agricultural Sciences** 92 (12): 1423–1430, December 2022. <https://doi.org/10.56093/ijas.v92i12.124948>

PRADO, M.R.V. **Fertilizante organomineral líquido contendo substâncias húmicas em soja cultivada sob estresse hídrico.** 2014. 57 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Agronomia, Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Cuiabá, 2014.

ROZATTI, A. L., BORSONI, A., MANCINI, C. Características agronômicas e produtividade da soja com utilização de condicionadores de solo e bioestimulantes no sulco de plantio. **Revista Cultivando o Saber**, Volume Mercado e Pesquisa. Cascavel -Pr. 2022

SANTOS, L. L. S. **Uso de bioestimulantes no sulco de semeadura e no tratamento sementes de cultivares de soja.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 20., 2017, Foz do Iguaçu. Resumos [...]. Foz do Iguaçu: Abrates, 2017a. v. 2, p. 182 – 183.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** 5. ed., 356 p. 2018.

SCHNEIDER, J. **Atributos microbiológicos de um Latossolo Bruno submetido a diferentes sistemas de manejo e calagem**. 2007. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – UDESC, Lages, 2007.

SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. **Determinação do Carbono da Biomassa Microbiana do Solo (BMS-C)**. Seropédica: Embrapa Agrobiológica, 2007. 6 p. (Embrapa Agrobiológica. Comunicado Técnico, 98).

SILVA, R. R. D.; SILVA, M. L. N.; CARDOSO, E. L.; MOREIRA, F. M. D. S.; CURTI, 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.

SOARES, L. H. **Manejo fisiológico com base em tratamento de sementes e aplicação de organominerais via foliar para sistemas de alto potencial produtivo de soja**. 2013. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

SPARLING, G. P.; WEST, A. W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: Calibration in situ using microbial respiration and ¹⁴C labelled cells. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.20, p.337-343, 1988.

STANIER, R.Y. **Grupos importantes de eubactérias unicelulares**. In: Mundo dos Micróbios. Cap.18, 1969.

SHAFI, J.; TIAN, H.; JI, M. Bacillus species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, Abingdon, v. 1, n. 1, p. 446-459, Apr. 2017.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; VLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**, 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 174p. 1995.

TREVISAN, S. et al. Humic substances biological activity at the plant-sol interface. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 6, p.635-643, jun. 2010.

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

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um podzólico vermelho-escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. **Rev. Bras. Ciênc. Solo** [online], v.24, n.1, 2000.

VENZKE FILHO, S. de P. **Biomassa microbiana do solo sob sistema de plantio direto na região de Campos Gerais, Tibagi, PR**. 2003. 114f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba 2003.

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of chromic acid titration method. **Soil Science**, Baltimore, v. 37, p. 29-38, 1934.

YANG, F., TANG, C., AND ANTONIETTI, M. Natural and artificial humic substances to manage minerals, ions, water, and soil microorganisms. **Chem. Soc. Rev.** 50, 6221–6239, 2021. doi: 10.1039/D0CS01363C

ZANON, A. J. et al. **Ecofisiologia da soja visando altas produtividades**. 1.ed. Santa Maria: Pallotti, 2018. 135 p.