

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO “STRICTO SENSU” EM
ENGENHARIA QUÍMICA – NÍVEL MESTRADO

**USO DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *BACILLUS* COMO PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO PARA A CULTURA DO MILHO E DA SOJA**

RAQUEL JACKELINE RATZ

TOLEDO – PR– BRASIL

JULHO de 2014

RAQUEL JACKELINE RATZ

**USO DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *BACILLUS* COMO PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO PARA A CULTURA DO MILHO E DA SOJA**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química em
cumprimento parcial aos requisitos
para obtenção do título de Mestre
em Engenharia Química, área de
concentração em Monitoramento e
Controle Ambiental.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Soraya
Moreno Palácio.

TOLEDO – PR – BRASIL

JULHO de 2014

Agradecimentos

Primeiramente, quero agradecer a Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais Cláudio José Ratz e Mônica Ratz e meus dois irmãos Rafael Ratz e Rodrigo Ratz pelo apoio familiar, incentivo e toda força que me foi necessária.

Aos meus familiares pelo incentivo e força.

A Prof. Dra. Soraya Moreno Palácio pela orientação, dedicação, incentivo e paciência.

A todo o corpo docente do programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

A meus amigos do mestrado, pelos momentos divididos juntos. Em especial Grettya Maria Assunção e Cristiane Bourscheidt por toda a amizade e parceria.

A Henan Michelim e Renata Vicentino pelo apoio técnico, ajuda e companheirismo durante todo o desenvolvimento do trabalho.

A todos os meus amigos pelo apoio, incentivo e carinho.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A empresa Biotecnal Soluções Ambientais pelos micro-organismos fornecidos e pelo apoio financeiro.

E a todos que contribuíram para a execução desta dissertação.

*“Determinação, coragem e
auto confiança são fatores
decisivos para o sucesso. Se
estamos possuídos por
uma inabalável
determinação
conseqüiremos superá-los.
Independentemente das
circunstâncias, devemos
ser sempre humildes,
recatados e despidos de
orgulho.”
(Dalai Lama)*

SUMÁRIO

ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO	1
2.OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 Produção agrícola brasileira	4
3.2 Cultura do milho	5
3.3 Cultura da soja.....	6
3.5 Exigências nutricionais para as culturas do milho e da soja	10
3.6 Rizobactérias promotoras de crescimento	11
3.7 <i>Bacillus</i>	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 Coleta, caracterização do solo e preparação do solo	18
4.2 Inóculos utilizados.....	19
4.3 Preparação e inoculação das sementes de milho.....	19
4.4 Preparo e inoculação das sementes de soja	20
4.7 Delineamento Experimental	22
4.8 Análise Estatística.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 Análise química do solo	24
5.2 Germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de milho de sementes lavadas	26
5.3 Obtenção dos resultados de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de milho de sementes não lavadas	30
5.4 Resultados do estudo do efeito do tipo de semente: lavadas e não lavadas para a germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de milho.....	33
5.5 Resultados de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de soja com inóculo na semente	35

5.6 Resultados de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de soja com inóculo no solo	38
6.CONCLUSÃO	46
8. REFERÊNCIAS.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Quantidade de fertilizante (NPK) necessário para realização de calagem do solo.....	18
Tabela 02. Quantidades de carbonato de cálcio e de adubos necessárias para cada tratamento.....	19
Tabela 03. Tratamentos aplicados ao solo antes do plantio das sementes de milho e de soja e tipos de semente utilizadas.....	21
Tabela 04. Variáveis e níveis do planejamento fatorial completo 3^2 para obtenção do melhor rendimento das culturas estudadas.....	22
Tabela 05. Ensaios para obtenção do melhor rendimento das culturas estudadas.....	23
Tabela 06. Resultados da caracterização química do solo.....	24
Tabela 07. Exemplos da classificação de pH em água e em CaCl_2	25
Tabela 08. Resultados obtidos para as plantas de milho de sementes lavadas.....	27
Tabela 09. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho de sementes lavadas.....	29
Tabela 10. Resultados obtidos para as plantas de milho de sementes não lavadas.....	30
Tabela 11. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho de sementes não lavadas.....	32

Tabela 12. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho com o efeito da lavagem da semente.....	34
Tabela 13. Resultados obtidos para as plantas de soja com inóculo na semente.....	36
Tabela 14. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de soja com inoculação na semente.....	37
Tabela 15. Resultados obtidos para as plantas de soja com inóculo no solo.....	39
Tabela 16. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de soja com inoculação no solo.....	40
Tabela 17. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de soja com o efeito do tipo de inoculação da semente.....	42
Tabela 18. Teste de Tukey para o peso úmido e peso seco das plantas de soja com o efeito do tipo de inoculação da semente.....	43

USO DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *BACILLUS* COMO PROMOTORAS DE CRESCIMENTO PARA A CULTURA DO MILHO E DA SOJA

AUTORA: RAQUEL JACKELINE RATZ

ORIENTADORA: PROF. DR. SORAYA MORENO PALÁCIO

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química; Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Rua da Faculdade, 645; CEP: 85.903-000 – Toledo – PR, Brasil, defendida em 20 de agosto de 2014, 71 p.

RESUMO

A cultura de milho e da soja são destaques da recente expansão da atividade agrícola brasileira. Cultivadas em todo o Brasil são usadas tanto para alimentação, quanto para usos alternativos. O modelo de produção agrícola vigente privilegia o uso intensivo de insumos industrializados, negligenciando o potencial e as oportunidades oferecidas pela exploração dos componentes biológicos do solo em prol da produção com bases sustentáveis. As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) são uma possibilidade para a redução no emprego de fertilizantes químicos, aumento na produtividade e diminuição dos custos para a produção do milho e da soja. Os objetivos do experimento foram avaliar o efeito de bactérias do gênero *Bacillus*, sobre os parâmetros: germinação, crescimento e nutrição das plantas de milho e da soja. Foram utilizados duas formulações diferentes à base *Bacillus*. Para a cultura do milho a inoculação foi feita em sementes lavadas e semente não lavadas, já para a cultura da soja a inoculação foi feita em sementes e diretamente no solo. O experimento foi realizado com 03 repetições, totalizando 108 vasos. O plantio das sementes inoculadas com RPCPs do gênero *Bacillus* foi feito com diferentes dosagens de adubação NPK, na dosagem ideal para cada cultura, 50% da ideal e sem a aplicação de fertilizantes, sendo semeadas

10 sementes por vaso. Após 15 dias do plantio foi avaliada o número de plantas emergidas, constatando que as sementes inoculadas com os preparados microbiológicos, obtiveram menor desempenho em relação as testemunhas. Setenta dias após o plantio foram avaliadas as características de crescimento e nutricionais das plantas. Para analisar os dados utilizou-se a Análise de Variância e o teste Tukey com 95% de confiança utilizando o programa estatístico SISVAR 5.3. Para as plantas de milho, os melhores resultados foram os de sementes não lavadas, e para a soja os melhores rendimentos foram encontrados em plantas com inoculo no solo. Os microorganismos foram mais eficientes na cultura da soja.

Palavras-chave: *Bacillus*, rizobactérias, soja, milho.

USE FROM BACTERIA OF BACILLUS GENDER AS GROWING PROMOTER TO THE CORN AND SOY BEAN CULTURE

AUTHOR: RAQUEL JACKELINE RATZ

SUPERVISOR: PROF. DR. SORAYA MORENO PALÁCIO

Master's degree dissertation; program of post graduation in Chemical Engineering; Western Paraná State University; Rua da Faculdade, 645; CEP: 85.903-000 – Toledo – PR, Brasil.

ABSTRACT

The corn and soy bean culture is one of the spearhead of the recent expansion of the Brazilian agriculture activity. Cultivated all over Brazil they are used either for feeding, or for other alternative uses. The current model of agriculture production privileges the intensive use of industrialized ingredients, neglecting the potential and the offered opportunities by the biological components of the soil in pros of the production in a sustainable basis.

The rizobacterias promoter of the plants growth (RPCPs) are a possibility for the reduction of chemical fertilizers use, rise in the productivity and decreasing of the costs for the corn production. The goals of this experiment will be evaluating the effect of bacterias from the Bacillus gender; about the parameters: germination, growth and nutrition of the corn and soy bean plants.

It has been used two different formulation based on Bacillus. For the corn culture the inoculation has been done directly in washed and unwashed seeds, but for the soybean culture the inoculation has been done with seeds that came straight from the soil.

The experiment has realized with 03 repetitions, totalizing 108 vases. The plantation if the inoculates seeds with RPCPs of the *Bacillus* gender was done with different dosages of fertilizer NPK, in the ideal dosage for each culture, 50% of the ideal and without any fertilizer application, being planted 10 seeds a vase.

After 15 days from the plantation the number of emerged plants was evaluated, finding that the inoculated seeds with the microbiological preparations, had lower performance regarding to its witnesses. Seventy days after the plantation, the growth and nutrition characteristics were evaluated. To analyze the data the system of analysis of variance was used and the Tukey test with 95% of reliance using the statistic program SISVAR 5.3. For the corn plants, the best results were from the unwashed seeds, and for the soybean the best incomes were found in plants with the inoculum in the soil. The microorganisms were more efficient in the soybean culture

Key Words: *Bacillus*, rizobactérias, soybean, corn.

1. INTRODUÇÃO

Ao lado da soja, a cultura de milho é uma das atividades agrícolas em crescente expansão no Brasil. Cultivadas em todo o país essas culturas são usadas tanto diretamente como alimento, quanto para usos alternativos, como por exemplo, na fabricação de ração animal, óleos, combustíveis. Atualmente as regiões com maior produção no Brasil são as regiões Sul (37,2%) e Centro Oeste (30,6%). No Sul a liderança é do Paraná e no Centro Oeste, Mato Grosso, de acordo com dados do MAPA, 2012.

O modelo de produção agrícola vigente privilegia o uso intensivo de insumos industrializados, como fertilizantes e agrotóxicos. Esses insumos quando utilizados de maneira incorreta, podem causar vários problemas à saúde e ao meio ambiente, além de elevar os custos da produção, negligenciando assim o potencial e as oportunidades oferecidas pela exploração dos componentes biológicos do solo em prol da produção com bases sustentáveis.

Visando o aumento na produtividade, e na diminuição dos custos para o produtor, têm-se buscado alternativas para a redução do uso de insumos e agrotóxicos. Uma alternativa eficaz é o uso de inoculantes, de baixo custo, com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) (COELHO *et al.*, 2007). As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) são bactérias que habitam o solo e com frequência são isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas para promover crescimento nas plantas associadas. Entre os gêneros mais estudados destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Serratia*, e *Azotobacter* (ZAADY *et al.*, 1993; RODRÍGUEZ e FRAGA, 1999; ARAÚJO, 2008). Os efeitos desses microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento das plantas (LAZARETTI & BETTIOL, 1997).

Existem relatos da promoção de crescimento por rizobactérias em várias culturas, exemplos como: soja (ARAÚJO & HUNGRIA, 1999), trigo (LUZ, 1996), feijão (SILVEIRA *et al.*, 1995), eucalipto (CAMPELLO, 1992), tomate

(FREITAS & PIZZINATTO, 1991) e alface (GOMES *et al.*, 2003). Nos casos citados, a promoção do crescimento está ligada a fatores como a maior produção de grãos, maior germinação em casa de cultivo e no campo, na melhor absorção dos nutrientes, no aumento do peso seco e na altura dos cultivares entre outros.

Desta forma, produtos à base de bactérias do gênero *Bacillus*, podem ser utilizadas visando o aumento da produtividade do milho e da soja, favorecendo assim o seu desenvolvimento.

2.OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de rizobactérias do gênero *Bacillus*, com potencial biotecnológico, no crescimento do milho e da soja.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de bactérias do gênero *Bacillus*, em duas formulações, sobre os parâmetros: germinação e crescimento das plantas de milho e da soja.
- Comparar os efeitos obtidos em plantas de milho e soja que receberam adubação NPK, combinação NPK + bactérias e somente bactérias.
- Avaliar a possibilidade da redução da adubação NPK quando associada à inoculação das bactérias.

3.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produção agrícola brasileira

Um dos grandes desafios das próximas décadas, será garantir os meios para a produção de alimentos e energia em quantidade e qualidade suficientes para atender à demanda oriunda de uma população com dois bilhões de pessoas a mais do que hoje (EMBRAPA, 2013).

Segundo Beddinton (2011) a produção global de alimentos deve ser aumentada em cerca de 40% nas próximas duas décadas para se evitar o aumento da fome global. Este autor enfatiza a necessidade de mudanças na agricultura para que o aumento na produção não comprometa a sustentabilidade.

Segundo uma projeção do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2013), o Brasil se consolidará como uma potência agrícola nos próximos dez anos e irá disputar a liderança na produção de alimentos com os Estados Unidos. De acordo com o estudo, produtos agrícolas de alto consumo interno, e que já fazem parte da pauta de exportação brasileira, tendem a ter um aumento de produção, sobretudo devido ao avanço tecnológico, e ganhar mais mercado. As estimativas indicam que a produção de grãos deve aumentar 23% até 2021 e a área de colheita será 9,5% maior que a atual.

A partir dos anos 1990, a agricultura brasileira passou por um processo de modernização, contribuindo para que a cultura da soja e do milho passasse por uma reestruturação ao longo da sua cadeia, devido à introdução de novas tecnologias. Esse processo aumentou a participação da cadeia agroindustrial para a economia do Brasil, tornando-as essenciais para o crescimento de renda, emprego e das divisas da exportação (Da Silva *et. al.*, 2011).

3.2 Cultura do milho

O milho se tornou um dos grãos mais cultivados no mundo, devido ao seu potencial produtivo, valor nutricional e pela sua composição química. Hoje é fonte geradora de muitos empregos, pois a sua cadeia produtiva envolve desde a produção interna voltada para a exportação do produto bruto, até a transformação do produto voltada para a indústria.

Com uma área de cultivo de 15,416 milhões de hectares no Brasil e produção de 76,011 milhões de toneladas referente à safra 2012/13 (CONAB, 2013), o país ocupa o terceiro lugar mundial na produção do cereal, atrás apenas dos Estados Unidos e China, que ocupam o primeiro e segundo lugar respectivamente.

Produzido em todas as regiões do Brasil, este cereal é cultivado por grandes produtores, mas também é muito utilizado para a agricultura de subsistência. Apesar de ser um cereal de alto valor nutritivo, a maior parte de sua produção é utilizada como ração de bovinos, suínos, aves e peixes. Somente cerca de quinze por cento da produção brasileira se destina ao consumo humano e, mesmo assim, de maneira indireta na composição de outros produtos.

O plantio ocorre praticamente durante o ano todo. Devido a isto e, para facilitar o acompanhamento conjuntural denominou-se a cultura de acordo com a época de plantio. O milho safra ou primeira safra é plantado de agosto a dezembro e o milho safrinha ou segunda safra é plantado de janeiro a maio. O período mais expressivo para o plantio ocorre na safra, mas o milho safrinha vem ganhando espaço, desde a década de 80, como alternativa viável de atividade econômica e de produto para consumo próprio no período de outono-inverno. Os plantios de verão são realizados em todos os estados, na época tradicional, durante o período chuvoso, que ocorre no final de agosto, na região Sul, até os meses de outubro/novembro, no Sudeste e Centro-Oeste. Entretanto, na região Nordeste, esse período de plantio ocorre no início do ano.

O Estado do Paraná produz em média cerca de 22% da produção nacional de milho e é campeão em produtividade, com uma média de 7.873 quilos por hectare, conforme resultado obtido na primeira safra de milho em 2010/11. O Paraná consome cerca de 8,5 milhões de toneladas de milho, sendo a maior parte transformada em ração animal, para suprir a demanda das cadeias produtivas de carne de frango e de suínos. O restante do milho é vendido para outros estados, bem como para exportação, um novo canal de comercialização que o Estado também vem explorando (CONAB, 2011).

Hoeft (2003), afirma que um fator que contribui para os altos níveis de produtividades de vários agricultores no mundo é a habilidade de identificar e manter um ambiente altamente produtivo no solo. E que as áreas de alta produtividade têm em comum o manejo que prioriza a produção da matéria orgânica.

Para que a produção nacional e a área plantada deste cereal continuem crescendo é imprescindível a difusão da tecnologia entre os agricultores. Nas gramíneas, o nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade e, por isso, em muitas situações, é suprido insuficientemente (Amado et al., 2002).

Uma alternativa interessante ao melhor aproveitamento do nitrogênio seria a associação do milho com bactérias. Essas bactérias se associam as gramíneas atuando na fixação do N atmosférico, na produção de hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas, estimulando assim o crescimento vegetal, tanto na parte aérea como das raízes (Dobbelaere *et al.*, 1999).

3.3 Cultura da soja

. No Brasil, a partir de 1970 a produção da soja passou a ter grande relevância para o agronegócio, verificada pelo aumento das áreas cultivadas e, principalmente, pelo incremento da produtividade pela utilização de novas tecnologias. A soja representa, a nível mundial, o papel de principal oleaginosa produzida e consumida. A sua importância se deve pelo uso tanto para o consumo animal, através do farelo da soja, quanto para o consumo humano, através do óleo.

A partir de 1960, impulsionada pela política de subsídios ao trigo, visando auto-suficiência, a soja se estabeleceu como cultura economicamente importante para o Brasil. Nessa década, a sua produção multiplicou-se por cinco (passou de 206 mil toneladas, em 1960, para 1,056 milhão de toneladas, em 1969) e 98% desse volume era produzido nos três estados da Região Sul, onde prevaleceu a dobradinha, trigo no inverno e soja no verão (Embrapa, 2013).

O crescimento da produção de soja no Brasil, de quase 260 vezes no transcorrer de apenas quatro décadas, determinou uma cadeia de mudanças sem precedentes na história do País. Foi a soja, inicialmente auxiliada pelo trigo, a grande responsável pelo surgimento da agricultura comercial no Brasil.

Esse crescimento foi o grande responsável pela aceleração da mecanização das lavouras brasileiras, pela modernização do sistema de transportes, pela expansão da fronteira agrícola, pela profissionalização e pelo incremento do comércio internacional, pela modificação e pelo enriquecimento da dieta alimentar dos brasileiros, pela aceleração da urbanização do País, pela interiorização da população brasileira (excessivamente concentrada no sul, sudeste e litoral do Norte e Nordeste), pela tecnificação de outras culturas (destacadamente a do milho).

A soja, como lavoura comercial, chegou no Estado do Paraná em meados dos anos 50. Até então, sua produção era irrisória e as poucas e pequenas lavouras de soja existentes na região destinavam-se ao consumo doméstico na alimentação de suínos, principalmente. O total da produção não passava de 60 toneladas, segundo dados do MAPA.

A produção do Estado do Paraná passou de 8 mil toneladas na média dos anos 1960 e 1961, para 150 mil na média dos anos 60, para 3,5 milhões na média dos anos 70, para 4,15 milhões na média dos anos 80 e para 6,5 milhões de toneladas na média dos anos 90. Segundo projeção da Informa Economics FNP a produção brasileira de soja na safra 2013/2014, em fase de colheita, deve alcançar 86,75 milhões de toneladas. O resultado representa uma redução de 2 milhões de toneladas ante estimativa anterior, mas é 5,25 milhões de toneladas maior do que a safra 2012/2013.

Esta cultura apresenta uma grande demanda de nutrientes, especialmente o nitrogênio, sendo este extraído predominantemente através da fixação biológica por bactérias fixadoras de nitrogênio (*Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii*), as quais fornecem eficientemente para os grãos de soja cerca de 150 Kg ha⁻¹ de nitrogênio (HUNGRIA et al., 1994) e até 94% do nitrogênio requerido pelas cultivares mais produtivas pode ser fornecido por esse processo (HUNGRIA et al., 2006).

A importância da fixação biológica transformou a inoculação com bactérias nas sementes em uma necessidade tecnológica para atingir ganhos econômicos pela supressão da aplicação de fertilizantes nitrogenados, os quais, se fossem aplicados no plantio, poderiam gerar gastos de aproximadamente US\$ 3 bilhões ao país (MERCANTE, 2006).

Mercante (2006), afirma que para aumentar/potencializar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja alguns aspectos diretamente relacionados com o incremento da nodulação e do potencial simbiótico devem ser levados em conta, como a reinoculação de rizóbios em cultivos tradicionais de soja, reforçando a recomendação da inoculação a cada cultivo de soja no Brasil, ou minimizando os fatores limitantes da nodulação e fixação biológica de nitrogênio. Entre tais fatores limitantes estão a adubação mineral nitrogenada, o efeito de toxicidade de fungicidas aplicados às sementes de soja e a deficiência dos micronutrientes cobalto e molibdênio.

Segundo dados da Embrapa (2011), a pesquisa brasileira vem produzindo trabalhos relevantes para permitir a maximização da eficiência simbiótica na interação entre soja e estirpes de rizóbio, visando à obtenção de incrementos na produtividade da cultura.

3.4 Defensivos agrícolas

Considerando o crescimento populacional e a necessidade crescente de produção de grãos para a alimentação humana e animal e atualmente para a produção de biocombustíveis, é de suma importância o aumento da produção.

O modelo atual de produção utiliza grandes quantidades de insumos como fertilizantes e agrotóxicos.

O consumo de insumos no Brasil está concentrado em algumas culturas, principalmente soja e milho, que representam juntas, mais da metade da demanda nacional (BNDES, 2006).

De modo geral, o conceito corrente de defensivo agrícola – também conhecido como agrotóxico – reveste-se de uma certa impropriedade, porque procura difundir a noção de que seu uso aumenta a produtividade das lavouras. Na verdade, os agrotóxicos constituem uma categoria especial de insumos, diferente dos fertilizantes, corretivos e sementes melhoradas. A diferença reside no fato de que tais produtos, ao serem utilizados dentro das técnicas recomendadas, têm sempre como resposta uma produtividade agrícola maior. Por outro lado, no sentido estrito, o papel do defensivo é evitar a quebra de safras por ataque de pragas ou doenças às culturas, ou de servir como coadjuvante na preservação das safras armazenadas. Dessa forma, atua como um agente repressivo de elementos exógenos às plantas ou ao produto colhido (BORGES FILHO, 2003).

Vários estudos comprovam que o uso excessivo de insumos agrícolas pode contaminar, através de seus resíduos, o solo, os cursos d'água, os lençóis freáticos e os alimentos, tornando o consumo de certos produtos de grande risco para a saúde humana. Segundo Jorge e Torre-Neto (2002), pelo menos 45 tipos de agrotóxicos já foram detectados no lençol freático, o que tem tornado a legislação mundial a esse respeito muito mais severa.

Borges Filho (2003) afirma que o uso indiscriminado de agrotóxicos também pode gerar uma resistência das pragas a esses produtos, além de ter um papel determinante no aparecimento de novas pragas e no desequilíbrio da cadeia de presas e predadores.

A análise de solo é a principal ferramenta para avaliar a fertilidade do solo e embasar as recomendações de nutrientes para as culturas.

Um solo muito pobre geralmente apresenta limitações nos patamares de produção, mesmo quando as doses aplicadas são elevadas, em virtude do pequeno volume de solo com altos teores (faixas adubadas). Por outro lado,

quando o solo atinge classes de teores altos ou muito altos, a aplicação de grandes quantidades do nutriente não trás retornos econômicos, além de representar um desperdício de recursos e, muitas vezes, contribuir para o aumento da poluição do meio.

3.5 Exigências nutricionais para as culturas do milho e da soja

Coelho (1995) afirma que na produção de grãos é necessário colocar a disposição da planta a quantidade total de nutrientes que esta extrai, que devem ser fornecidos através de adubações. As necessidades nutricionais de qualquer planta são determinadas pela quantidade de nutrientes que esta extrai durante o seu ciclo. Esta extração total dependerá, portanto, do rendimento obtido e da concentração de nutrientes nos grãos e na palhada, com doses moderadas a altas de fertilizantes. Observa-se que a maior exigência das plantas refere-se a nitrogênio e potássio, seguindo-se do cálcio, magnésio e fósforo.

Com relação aos micronutrientes, as quantidades requeridas pelas plantas são muito pequenas. Por exemplo, para uma produção de 9 t de grãos/ha, são extraídos: 2.100 g de ferro, 340 g de manganês, 110 g de cobre, 400 g de zinco, 170 g de boro e 9 g de molibdênio. Entretanto, a deficiência de um deles pode ter tanto efeito na desorganização de processos metabólicos quanto a deficiência de um macronutriente como, por exemplo, o nitrogênio.

O nitrogênio e o potássio são os nutrientes de maior importância quando o sistema agrícola deixa de ser extrativo e passa a ser uma agricultura intensiva e tecnificada, com o uso de irrigação. Em condições de baixa produtividade, em que as exigências nutricionais são menores, mesmo uma modesta contribuição do nitrogênio e do potássio suprida pelo solo pode ser suficiente para eliminar o efeito da adubação com estes nutrientes (COELHO, 1995).

As culturas do milho e da soja removem grandes quantidades de nitrogênio do solo e usualmente requerem o uso de adubação nitrogenada em

cobertura para complementar a quantidade suprida pelo solo, quando se deseja produtividades elevadas.

As recomendações atuais para a adubação nitrogenada são realizadas com base em curvas de resposta, histórico da área e produtividade esperada. A recomendação da adubação nitrogenada em cobertura para a cultura do milho e da soja, de modo geral, varia de 40 a 70 kg de N/ha (COELHO, 1995).

Depois do nitrogênio, o potássio é o elemento absorvido em maiores quantidades, sendo que 20% são exportados nos grãos.

A exemplo do fósforo, a análise do solo tem se mostrado útil para discriminar respostas do milho e da soja à adubação potássica. Aumentos da produção em função da aplicação de potássio têm sido observadas para solos com teores muito baixos e com doses de até 120 kg de K₂O/ha.

Apesar do fósforo total estar presente em quantidades razoáveis (50 a 350 ppm), a maioria dos solos brasileiros possui baixo teor de fósforo disponível, por este motivo as respostas à aplicação de fósforo em soja e milho têm sido altas e frequentes.

Para as duas culturas, considera-se que para cada tonelada de grãos produzida são exportados 10 kg de P₂O₅/ha. Embora as exigências das plantas em fósforo sejam em quantidades bem menores do que as em nitrogênio e as em potássio, as doses normalmente recomendadas são altas, em função da baixa eficiência (20 a 30%) de aproveitamento desse nutriente pela cultura (COELHO, 1995).

3.6 Rizobactérias promotoras de crescimento

As pesquisas com rizobactérias começaram na Rússia e na Ucrânia, em 1885, usando *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* e outras espécies de *Bacillus* (ZAGO, 2003). De acordo com FREITAS (1994), as pesquisas com fertilizantes bacterianos intensificaram-se após os trabalhos feitos por BURR et al. (1978), ao demonstrarem aumentos significativos na

produção de batatas que receberam inóculo de *Pseudomonas fluorescens* e de *P. Putida*.

Foram os trabalhos de KLOEPPER & SCHROTH (1981), que adotaram pela primeira vez a expressão “rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs)” para denominar as bactérias benéficas que vivem na rizosfera de plantas sem estabelecer relações simbióticas.

Dentre os microrganismos mais pesquisados, destacam-se bactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs), que podem ser utilizadas para tratamento de sementes, explantes e mudas micropropagadas, incorporadas ao substrato de plantio, tratamento de estacas, tubérculos e raízes, pulverizações na parte aérea incluindo folhagem e frutos, e em pós-colheita.

Segundo Mariano *et al.* (2004), as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) fazem parte da população residente das plantas como epifíticas ou endofíticas e não são fitopatogênicas.

Os efeitos benéficos exercidos pelas RPCPs podem ser diretos ou indiretos. A promoção direta de crescimento ocorre quando uma rizobactéria produz metabólitos que promovam diretamente o crescimento das plantas sem a interação com a microbiota do solo, como, por exemplo, pela produção de reguladores de crescimento, tais como auxinas (ASGHAR *et al.*, 2002), citocinina (ARKHIPOVA *et al.*, 2005), giberelina (GUTIÉRREZ-MAÑERO *et al.*, 2001; JOO *et al.*, 2004) e pela solubilização de fosfatos minerais (FREITAS *et al.*, 1997). A promoção de crescimento indireta ocorre pela eliminação de patógenos, ou seja, pela produção de β -1,3-glucanase (FRIDLENDER *et al.*, 1993), antibióticos (RAAIJMAKERS *et al.*, 1997), ácido cianídrico (OWEN & ZDOR, 2001) e sideróforos (PIDELLO, 2003). A produção de HCN também pode promover o crescimento das plantas diretamente, pelo aumento do desenvolvimento dos pêlos radiculares (LUZ, 1996). RPCPs podem, ainda, ativar mecanismos de defesa das plantas e induzir resistência sistêmica a vários patógenos, como observado por TEIXEIRA *et al.* (2005) ao avaliarem um efeito significativo da aplicação de rizobactérias no controle da ferrugem do eucalipto.

A possibilidade da aplicação das rizobactérias nos solos traz benefícios diretos para a produção agrícola e, ao mesmo tempo, é uma alternativa de cultivo com menor uso de insumos agrícolas (SCHROTH & HANCOCK, 1982; LAVIE & STOTZKY, 1986).

As Rizobactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (RPCPs) representam uma grande variedade de bactérias de solo que, quando associadas com plantas, levam a um aumento substancial da área da raiz. Esse aumento na superfície radicular promove uma maior eficiência na retirada de água, macro e micro nutrientes pelas plantas. Outro aspecto importante é que as RPCPs apresentam um relativo efeito antagônico sobre muitos microrganismos patogênicos, promovendo, portanto, um eficiente controle biológico na natureza (PEDRINHO, 2009).

Rodriguez & Fraga (1999) citam que estirpes do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* estão entre as bactérias com maior potencial de solubilização de fósforo. Richardson (2000) relatou que a maioria dos solos tropicais são pobres em fósforo disponível às plantas e que o fertilizante fosfatado representa um alto custo para o agricultor. Além da solubilização do fósforo, outros mecanismos que estimulem o crescimento das plantas estão também relacionados com o metabolismo microbiano no solo, tais como a produção de enzimas nitrogenase, quitinases e glucanases (CATTELAN et al., 1999).

O estímulo ao crescimento das plantas proporcionado pelas rizobactérias está relacionado também a outros fatores, como a diminuição na incidência e inibição de crescimento de fitopatógenos ou outros microrganismos deletérios (SIMEONI et al., 1987 apud MELLO, 1998).

Os efeitos positivos das RPCPs sobre o crescimento das plantas têm obtido uma grande aceitação no mundo todo. Significantes aumentos sobre o crescimento e a produtividade de culturas na última década têm sido reportados na inoculação com RPCPs (GUPTA et al., 2000, BISWAS et al., 2000; MARIANO & KLOEPPER, 2000; ASGHAR et al., 2002; VESSEY, 2003; GRAY & SMITH, 2005; SILVA et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2008; ARAÚJO, 2008).

Além da utilização de rizobactérias na promoção de crescimento de plantas e no controle biológico de doenças e de plantas daninhas, muitas espécies de diversos grupos podem ser utilizadas na conservação do meio ambiente e na biorremediação de solos contaminados, pois possuem a habilidade de degradar compostos xenobióticos (BUNDY et al., 2004; NEUMANN et al., 2004).

Após a avaliação do uso do *Bacillus subtilis* na cultura da soja, foi observado que houve um aumento significativo no rendimento da cultura no campo, bem como um aumento na nodulação e no crescimento das plantas (ARAÚJO & HUNGRIA, 1999). Segundo os autores, a estirpe de *B. subtilis* utilizada apresentou grande produção de fito-hormônios (ácido 14 indolacético e indolbutírico) e antibióticos durante seu crescimento (ARAUJO et al., 2005).

Araujo (2008) observou que trabalhando com milho em casa de vegetação, a inoculação das sementes com rizobactérias apresentou potencial para incrementar o crescimento da cultura, sugerindo a aplicação destas bactérias em condições reais de campo.

Na China, as BPCPs são conhecidas e comercializadas como bactérias que aumentam a produtividade (KLOEPPER, 1997) e em 1987 já eram aplicadas em larga escala, em 48 diferentes culturas, atingindo 3,35 milhões de hectares (WENHUA & HETONG, 1997). Nesse país, aumentos de produtividade tão significativos como 23,1 e 22,5 % têm sido obtidos pela aplicação dessas bactérias respectivamente em batata doce e batata (ZHANG et al., 1996).

Luz (1990a) relatou aumento de 105 % na produção de trigo no campo, em 1990 causado por *B. subtilis*. Experimentos realizados em 1988 e 1989 testando oito microrganismos evidenciaram *B. subtilis* e os isolados bacterianos 155/86.4 e 4/88.4AA como os melhores para aumentar a emergência de plântulas no campo. O isolado 4/88.4AA foi o melhor para aumentar a produção de grãos no campo (Luz, 1996). Em condições de campo, o tratamento das sementes com *B. subtilis* (64/88.2 e 178/86.1), *Bacillus* sp. (66/86.2) e a levedura *Sporobolomyces roseus* (58/88.2) aumentou a produção de 18 a 31 % (Perondi et al., 1996).

Luz (1996) relatou aumentos significativos no crescimento de plântulas tratadas com *P. putida* biótipo B (63/88.4B), e isolados bacterianos 21/91.11.2A e 47/91.5.2C. No campo, *P. putida* biótipo B aumentou significativamente (9,4 %) a produção de trigo considerando a média de experimentos de quatro anos, sendo maior do que o aumento obtido usando iprodione + thiran (6,5 %).

Stein (1988) relatou que *Pseudomonas fluorescens*, utilizada em tratamento de sementes, promoveu aumentos de germinação e peso fresco de até 60,3 e 78 %, respectivamente em plântulas de tomateiro. Já Mantovanello & Mello (1994) utilizando rizobactérias do gênero *Pseudomonas* obtiveram aumentos no peso seco da parte aérea (até 44 %) e raízes (36,8 %) de plântulas de tomateiro, em solo não autoclavado. Em solo autoclavado, os aumentos foram respectivamente de até 138,5 e 119 %.

Peixoto *et al.* (1995) relatou também a promoção de crescimento de plântulas de tomateiro por isolados de *Pseudomonas* fluorescentes antagonistas a *R. solanacearum* (biovar III). FR48, TR33 e FR44 induziram os maiores aumentos de emergência com valores médios de respectivamente, 52,5, 45,7 e 40,5 %. FR4 promoveu os maiores aumentos de altura e peso seco com valores médios de 30,9 % e 61,1 %, respectivamente. O tratamento do substrato associado à bacterização da semente demonstrou ser, em geral, o método mais eficiente. O tratamento de sementes de tomateiro com bactérias isoladas do rizoplane promoveu o crescimento de plântulas avaliado pelo número de folhas e altura de plântulas (Bentes *et al.*, 1998).

Silveira *et al.* (2005) isolou bactérias epifíticas e endofíticas de plantas de pepino sadias, coletadas em diversos municípios do Estado de Pernambuco e avaliadas na promoção de crescimento de plântulas em casa de vegetação. Foram realizados três bioensaios. No primeiro foram testados 93 isolados; no segundo, 32 isolados e; no terceiro, oito isolados de pepino e mais 10 isolados provenientes de outras culturas.

As sementes de pepino foram bacterizadas, semeadas em substrato orgânico contido em bandejas de isopor e analisadas dez dias após a semeadura quanto às matérias secas da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST). Dos três bioensaios os isolados epifíticos PEP52, PEP8, PEP82, PEP91 e C22 foram selecionados por aumentarem significativamente a MSR e

MST das plântulas. Após o teste de compatibilidade "in vitro", esses cinco isolados, testados separadamente e em misturas, mostraram-se eficientes no aumento do índice de MSPA, MSR e MST das plântulas de pepino, sem diferirem significativamente entre si. Os isolados PEP81 (*Bacillus amyloliquefaciens*) e PEP91 (*Enterobacter cloacae*) destacaram-se com índices de aumentos de 55,5 e 39,5% (MSPA), 42,9 e 37,2% (MSR) e 41,6 e 34,0% (MST), respectivamente. A produção do ácido indol acético, ácido cianídrico, solubilização de fosfatos e alteração nos teores foliares dos macronutrientes N, P, K, Ca e Mg, foram avaliados como possíveis mecanismos de ação desses dois isolados, porém com resultados negativos. A bacterização das sementes com *B. amyloliquefaciens* PEP81 e *E. cloacae* PEP91 melhorou a qualidade das mudas de pepino (Silveira *et al.*, 2005).

3.7 *Bacillus*

O gênero *Bacillus* é composto de microrganismos ambientais cujo habitat principal é o solo e onde possuem um papel importante no ciclo do carbono e do nitrogênio.

As bactérias desse gênero são extremamente variáveis quanto ao tamanho e formas que apresentam. As principais características do gênero são: bacilos gram positivos, células com a forma de bastonetes, aos pares ou em cadeias com extremidades arredondadas ou ângulos retos (MELLO, 1998).

A maioria delas tem exigências nutricionais simples, requerendo no máximo alguns aminoácidos ou vitamina 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, podendo ser armazenados, como inoculantes, por um determinado período.

Através de vários mecanismos pode ser realizada a promoção de crescimento vegetal com rizobactérias do gênero *Bacillus*, como por exemplo a produção de fito-hormônios estimuladores do crescimento (DATTA *et al.*, 1982)

,a mobilização do fósforo (FREITAS et al., 1997; DATTA et al., 1982), a produção de sideróforos e antibióticos (LUZ, 1996) , a inibição da síntese de etileno (GLICK et al., 1994), a indução de resistência das plantas contra fitopatógenos (RAMAMOORTHY et al., 2001) e pela eliminação dos microrganismos deletérios e de seus metabólitos tóxicos presentes na zona radicular (LUZ, 1996).

O controle de fitopatógenos ocorre pela produção de compostos antibióticos, que atuam na supressão desses parasitas na rizosfera, tornando-se assim um dos fundamentais mecanismos de ação das rizobactérias. (ARAÚJO et. al., 2005).

O cultivo desses microrganismos pode ser difícil, visto que algumas espécies podem exigir inúmeros fatores de crescimento.

No âmbito da agricultura, existem diversos produtos formulados para o controle biológico de fitopatógenos, tendo como ingrediente ativo espécies do gênero *Bacillus*, como exemplo: *Bacillus thuringiensis* (DIPEL, Abbot Co., USA), *Bacillus sphaericus* (BIOBAC, ICI, Alemanha) e *B. subtilis* (KODIAK, Gustafson Inc., USA). Estes produtos têm sido aplicados em países como Alemanha, Estados Unidos e Brasil.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os testes laboratoriais foram realizados no Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais (LAPA) e o experimento com as plantas foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), *Campus Toledo-PR*.

4.1 Coleta, caracterização do solo e preparação do solo

O solo foi coletado na região rural do município de Toledo-PR, peneirado e armazenado em recipientes plásticos. Uma amostra de aproximadamente 3Kg foi seca ao ar livre e destinada às análises físico-químicas.

Foi realizada a caracterização do solo analisando os seguintes parâmetros: pH (acidez ativa), Íons $H^+ + Al^{3+}$, Íon Al^{3+} , Ca^{2+} e Mg^{2+} trocáveis, Cálcio trocável, Magnésio trocável, Potássio disponível, Fósforo, Matéria orgânica, Nitrogênio, Carbono orgânico e Capacidade de retenção da água, conforme metodologias sugeridas pela bibliografia da Embrapa, 1997.

Para a aplicação de fertilizante seguiu-se a necessidade de aplicação de nitrogênio (30kg/ha de N), fósforo (90 kg/ha de P_2O_5) e potássio (70 kg/ha de K_2O), os resultados estão apresentados na Tabela 01. O fertilizante foi triturado para uma melhor absorção no solo.

Tabela 01. Quantidade de fertilizante (NPK) necessário para realização de calagem do solo.

Elemento	Fonte	Adubo(g/Kg de solo)
N	Sulfato de Amônio (21% N)	0,07
P	Superfosfato Triplo (41% P_2O_5)	0,11
K	Cloreto de Potássio (60% K_2O)	0,058

A partir das análises do solo fez-se necessária a correção do solo. A quantidade de adubos adequada para a quantidade de solo utilizada e para cada tratamento realizado está descrita na Tabela 02.

Tabela 02. Quantidades de carbonato de cálcio e de adubos necessárias para cada tratamento.

Tratamentos	CaCO ₃ (g/Kg de solo)	Superfosfato Triplo (g/Kg de solo)	Cloreto de Potássio (g/Kg de solo)	Sulfato de amônio (g/Kg de solo)	Semente
T1	0,93	0,11	0,058	0,07	Sem inóculo
T2	0,93	0,055	0,029	0,035	Sem inóculo
T3	0,93	0	0	0	Sem inóculo
T4	0,93	0,11	0,058	0,07	Preparado 01
T5	0,93	0,055	0,029	0,035	Preparado 01
T6	0,93	0	0	0	Preparado 01
T7	0,93	0,11	0,058	0,07	Preparado 02
T8	0,93	0,055	0,099	0,035	Preparado 02
T9	0,93	0	0	0	Preparado 02

4.2 Inóculos utilizados

As formulações comerciais contendo bactérias do gênero *Bacillus* foram cedidas por uma empresa localizada no município de Toledo – PR. São duas fórmulas diferentes, conforme descrito abaixo.

Preparado 01: bactérias das espécies *Bacillus subtilis* e *B. licheniformes* em uma concentração total de $1,25 \times 10^9$ UFC por grama de farelo de trigo.

Preparado 02: bactérias das espécies *Bacillus subtilis*, *B. licheniformes*, *B. amylolichefaciens*, *B. cereus* e *Lactococcus lactis* em uma concentração total de $1,25 \times 10^9$ UFC por grama de farelo de trigo.

4.3 Preparação e inoculação das sementes de milho

As sementes de milho adquiridas em um estabelecimento comercial de Toledo, continham uma substância para auxiliar na enraização denominada de enraizador. Para avaliar o efeito deste enraizador optou-se por usar as

sementes de duas formas: com o enraizador e sem o enraizador. Para remover o enraizador foi realizada a lavagem das sementes.

A lavagem foi feita da seguinte maneira: as sementes foram mergulhadas em álcool (70%) por 1 minuto, após, em solução de hipoclorito de sódio (2%) por 10 minutos, e novamente em álcool (70%). As sementes foram enxaguadas três vezes em água destilada e colocadas para secar em capela de fluxo laminar.

As sementes lavadas e não lavadas, foram inoculadas com os preparados 01 e 02. A inoculação foi feita umedecendo a semente com solução adesiva de maltodextrina 10% e colocadas em contato com os inóculos seguindo a proporção de 500g de inóculo para 25 kg de sementes.

4.4 Preparo e inoculação das sementes de soja

As sementes de soja foram cedidas por uma indústria alimentícia do município de Marechal Cândido Rondon – PR, eram sementes consideradas virgens (sem nenhum tipo de inóculo e/ou substância enraizadora).

A inoculação foi feita de duas formas: nas sementes e diretamente no solo. A inoculação das sementes foi realizada como descrito no item 4.3. Na inoculação no solo os preparados 01 e 02 foram adicionados diretamente no solo na proporção de 1 g de inóculo por Kg de solo. Cada vaso recebeu 4,3g de inóculo que foram distribuídos e misturados uniformemente em todo o solo.

4.5 Montagem do experimento

Em vasos com capacidade de 5,5 L pesou-se 4,300 Kg de solo e aplicou-se o calcário (carbonato de cálcio), o solo foi mantido por uma semana com uma umidade de 60% da capacidade de retenção de água para que a planta não sofresse estresse hídrico. Durante este período avaliou-se a perda

de água e fez-se a reposição da mesma. A avaliação dessa perda foi feita através da diferença de peso entre os vasos.

O solo antes do plantio recebeu os tratamentos descritos na Tabela 03. Os tratamentos T1, T2 e T3 receberam o plantio de sementes não inoculadas, os tratamentos T4, T5 e T6 receberam sementes inoculadas com o preparado 01 e os tratamentos T7, T8 e T9 as sementes com o preparado 02. Estes tratamentos foram aplicados tanto para as sementes de milho e de soja.

Tabela 03. Tratamentos aplicados ao solo antes do plantio das sementes de milho e de soja e tipos de semente utilizadas.

Tratamentos	Descrição dos tratamentos	Tipo de semente
T1	Adubação NPK com concentração ideal para a cultura estudada (NPKi)	Sem inóculo
T2	Adubação NPK com 50% da concentração ideal para a cultura estudada (NPK50i)	Sem inóculo
T3	Sem NPK	Sem inóculo
T4	NPKi	Preparado 01
T5	NPK50i	Preparado 01
T6	Sem NPK	Preparado 01
T7	NPKi	Preparado 02
T8	NPK50i	Preparado 02
T9	Sem NPK	Preparado 02

O experimento foi realizado com 03 repetições, para sementes de milho lavadas e não lavadas e para as sementes de soja com inóculo na semente e no solo, totalizando 108 vasos. Foi realizada a adubação NPK exigida para as culturas, em seguida foram semeadas 10 sementes por vaso, e após 15 dias do plantio foi avaliada o número de plantas emergidas.

Depois de avaliada a emergência das sementes em cada vaso houve o desbaste, mantendo-se 03 plantas por vaso durante setenta dias. Após esse período as plantas foram cuidadosamente arrancadas e as raízes separadas da parte aérea, as quais foram lavadas e pesadas. Mediu-se os comprimentos da parte aérea e fez-se as pesagens das mesmas.

Tanto as raízes quanto a parte aérea foram armazenadas em sacos de papel kraft furados e mantidas na estufa de secagem com circulação forçada na temperatura de 60°C até manter seu peso constante para determinar a massa seca de cada amostra.

4.7 Delineamento Experimental

Foi utilizado um planejamento fatorial completo 3^2 , onde foram avaliados 2 fatores: tipo de inóculo, tipos de tratamentos aplicados ao solo. Os níveis dos tipos de sementes foram sem inóculo, preparado 01 e preparado 02, para os tipos de tratamentos aplicados ao solo foram analisadas a adubação NPK com concentração ideal para a cultura estudada (NPKi), adubação com 50% da concentração ideal para a cultura estudada (NPK50i) e sem NPK. Para a semente de milho foi analisada a lavagem da semente (lavadas e não lavadas) e para a semente de soja o local de aplicação do inóculo (semente e solo).

Tabela 04. Variáveis e níveis do planejamento fatorial completo 3^2 para obtenção do melhor rendimento das culturas estudadas.

Variáveis	Níveis		
	(-1)	0	(+1)
Tipo de inóculo	Sem inóculo	Preparado 01	Preparado 02
Tratamento aplicado ao solo (adubação)	NPKi	NPK50i	Sem NPK

Para a obtenção do melhor rendimento das culturas estudadas os ensaios foram realizados com 3 repetições para cada combinação entre os níveis das variáveis tipo de semente e tipo de tratamento aplicado ao solo, totalizando 27 ensaios para cada tipo de semente (milho lavado, milho não lavado, soja com inóculo no solo e soja com inóculo na semente), conforme está apresentado na Tabela 05.

Tabela 05. Ensaios para obtenção do melhor rendimento das culturas estudadas.

Ensaio	Inoculo	Adubação
1	-1	-1
2	-1	0
3	-1	+1
4	0	-1
5	0	0
6	0	+1
7	+1	-1
8	+1	0
9	+1	+1

4.8 Análise Estatística

Para analisar os dados obtidos no item 4.7, realizou-se a Análise de Variância (ANOVA) e o teste de comparação de médias, teste Tukey, com 95% de confiança, sendo significativo um p-valor < 0,05, para verificar a melhor dosagem de adubação e o inoculo mais eficaz nos parâmetros de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de milho e de soja, utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.3.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise química do solo

A partir da metodologia apresentada para a caracterização química do solo, foram encontrados os resultados apresentados na Tabela 06.

Tabela 06. Resultados da caracterização química do solo.

Parâmetro	Unidade	Valor Obtido
pH em água		5,27
pH em CaCl_2		4,41
pH tampão SMP		5,45
$\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$	n°meq H + Al/ 100ml de solo	8,727
Al^{3+}	n°meq Al/ 100ml de solo	1,17
K	n°meq Al/ 100ml de solo	0,019
$\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$	meq Ca + Mg/ 100ml de solo	4,27
Ca^{2+} trocável	meq Ca / 100ml de solo	3,17
Mg^{2+} trocável	meq Mg/ 100ml de solo	1,1
Matéria orgânica	%	11,3
C orgânico	%	6,57
Nitrogênio	%	0,57
P disponível	ppm	0,11
Capacidade de retenção de água	%	35,98

A medida de pH fornece um índice do grau de acidez ou alcalinidade, e pode ser utilizado como indicativo das condições gerais de fertilidade do solo. Segundo Coelho (1995) a medida do pH em água indica um solo com acidez leve (pH entre 5,0 a 5,9), e para a medida realizada em CaCl_2 , o solo encontra-se com uma alta acidez (pH entre 4,4 a 5,0), conforme apresentado na Tabela 06.

Tabela 07. Exemplos da classificação de pH em água e em CaCl₂.

Classificação	pH em água *	Classificação	pH em água**	Classificação	pH em CaCl ₂
Acidez Elevada	≤ 5,0	Muito Baixo	≤ 5,0	Acidez Muito Alta	≤ 4,3
Acidez Média	5,0 a 5,9	Baixo	5,0 a 5,5	Acidez Alta	4,4 a 5,0
Acidez Fraca	6,0 a 6,9	Médio	5,6 a 6,0	Acidez Média	5,1 a 5,5
Neutro	7	Alto	≥ 6,0	Acidez Baixa	5,6 a 6,0
Alcalinidade Fraca	7,1 a 7,8			Acidez Muito Baixa	6,0 a 7,0
Alcalinidade Elevada	≥ 7,8			Neutro	7
				Alcalino	≥ 7,0

*Relação do Solo:Solução = (1:2,5); **Relação do Solo:Solução = (1:1), utilizada nos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Fonte: Coelho (1995).

Através das medidas encontradas de pH pode-se constatar que a classificação em que o solo mais se aproxima é de solos com pH muito ácido (pH em CaCl₂ menor que 4,5 e em água menor que 5,0).

Com as análises realizadas, obteve-se o valor de saturação por bases (V%) sendo 33%, caracterizando um solo com baixa fertilidade (solo distrófico), e devido a V% ser inferior ao necessário para a cultura do milho e da soja, que é de 70%. Com esse valor encontrado verificou-se a necessidade de calagem no solo, aplicando 0,93g CaCO₃ kg de solo⁻¹.

O alumínio está presente em uma concentração média (0,5 a 1,5) no solo coletado, porém, somente este dado não é suficiente para correlacionar o íon a sua toxicidade, para isto, calculou-se a Saturação por Alumínio (m%). O resultado encontrado é de m% sendo 8,98%, classificando assim o Al³⁺ como não prejudicial (m% entre 0 e 15%).

O alumínio, em solos ácidos, pode ser considerado um dos principais responsáveis pela baixa produtividade das culturas, constituindo um fator limitante ao crescimento das plantas.

A presença do alumínio reduz o crescimento e o desenvolvimento das raízes e diminui a absorção de nutrientes, o que é desfavorável para o

desenvolvimento de plantas sensíveis a esse elemento. Isso afeta a produção agrícola que, para obter altos rendimentos, necessita de substratos que possibilitem o desenvolvimento das raízes sem obstáculos químicos e/ou físicos. (ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001).

Os teores de cálcio e magnésio estão estreitamente relacionados com o nível de acidez do solo. Os valores encontrados para cálcio e magnésio apresentaram-se em média (2,0 a 4,0) e alta ($> 0,8$) concentração respectivamente, segundo Coelho (1995).

O teor de matéria orgânica fornece informações mais importantes do ponto de vista qualitativo do que quantitativo. No entanto, saber se o solo é rico ou pobre em matéria orgânica permite prever várias características que auxiliarão na realização de recomendações mais adequadas para o manejo do solo.

As análises realizadas tanto para a Matéria Orgânica (MO) quanto para o Carbono Orgânico (CO) mostram que ambos estão em baixa concentração no solo (< 15 para MO e $< 9,0$ para CO), indicando assim uma baixa CTC, alta possibilidade de lixiviação de bases (Ca, Mg e K), possibilidade de ocorrência de deficiências de enxofre e micronutrientes.

As análises de fósforo e potássio indicam que para a cultura do milho no estado do Paraná, estes se encontram em alta ($> 6,0$) e baixa ($< 0,10$) concentração respectivamente, e juntamente com o teor de nitrogênio caracterizaram, a necessidade da aplicação de fertilizantes.

5.2 Germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de milho de sementes lavadas

A Tabela 08 apresenta os valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para plantas de milho de sementes lavadas sob a variação de adubação e com diferentes inóculos.

Tabela 08. Resultados obtidos para as plantas de milho de sementes lavadas.

Ensaio	Inóculo	Adubação	Germinação	Comprimento (cm)	Peso úmido (g)	Peso seco (g)
T1	Sem inóculo	NPKi	6,66 ± 1,24	132,88 ± 4,49	96,66 ± 8,52	10,20 ± 1,08
T2	Sem inóculo	NPK50i	8,33 ± 1,63	134,54 ± 5,42	94,33 ± 8,16	11,30 ± 0,72
T3	Sem inóculo	SEM NPK	6,33 ± 0,81	131,80 ± 0,44	95,00 ± 0,81	11,46 ± 0,67
T4	Preparado 01	NPKi	6,00 ± 0,47	135,54 ± 4,73	101,33 ± 4,89	10,12 ± 1,07
T5	Preparado 01	NPK50i	6,00 ± 1,24	139,85 ± 1,73	87,33±14,23	9,56 ± 1,12
T6	Preparado 01	SEM NPK	7,00 ± 0,47	133,45 ± 5,53	88,66 ± 2,49	8,69 ± 0,47
T7	Preparado 02	NPKi	5,66 ± 0,94	130,32 ± 3,58	94,66 ± 5,73	9,67 ± 1,71
T8	Preparado 02	NPK50i	5,33 ± 1,41	124,01 ± 3,04	96,66 ± 3,85	11,97 ± 2,13
T9	Preparado 02	SEM NPK	5,33 ± 0,81	130,42 ± 1,22	90,33 ± 2,05	8,90 ± 0,82

Através das análises realizadas se pode constatar que o tratamento que obteve o melhor resultado para germinação foi o T2 que não possuía inóculo na sua semente e possuía adubação NPK50i. O tratamento que apresentou maior crescimento foi o T5 que possuía o do Preparado 01 e adubação NPK50i. O maior peso úmido foi obtido pelo tratamento T4 que foi inoculado com o Preparado 01 e adubação NPKi. Para o parâmetro peso seco o tratamento T8 apresentou melhores resultados, sendo inoculado com o Preparado 02 e adubação NPK50i.

Com os resultados apresentados é possível afirmar que existe interação específica entre a inoculação, a adubação e as sementes, pois quando comparados com as testemunhas (sem inóculo e sem adubação) os rendimentos foram melhores. Este fato também é comprovado por Araujo (2008) que afirma que com relação ao desenvolvimento das plantas, representado pela produção de matéria seca, observou-se que o milho foi a única cultura que respondeu à inoculação de *B. subtilis* na formulação BSFO. Rizobactérias promotoras do crescimento de planta foram responsáveis por aumento na emergência e crescimento de algodão (HAFEEZ et al., 2004) e milho (SHARMA & JOHRI, 2003). Também foi observado aumento na área

foliar e altura de plantas de milho pela inoculação das sementes com a formulação BSFO.

Com os resultados apresentados na Tabela 08, realizou-se a Análise de Variância (ANOVA) a um nível de confiança de 95% com auxílio do programa estatístico SISVAR 5.3, para verificar estatisticamente se há diferença na germinação, , comprimento, peso úmido e peso seco para plantas de milho de sementes lavadas, variando-se o inóculo e a adubação.

A Tabela 09 apresenta os resultados da Análise de Variância (ANOVA) para germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho de sementes lavadas, variando o inóculo e a dosagem de adubação.

Tabela 09. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho de sementes lavadas.

Parâmetro	Causas de Variação	(SQ)	(GL)	(QM)	F _{calculado}	F _{tabelado}	p-valor	Resultado
Germinação	Inóculo	4,22	2	2,11	2,71	3,55	0,093	ns
	Adubação	3,55	2	1,77	2,28	3,55	0,130	ns
	Inóculo*Adubação	14,88	4	3,72	4,78	2,93	0,008*	s
	Resíduo	14,00	18	0,77				
	Total	36,66	26					
Comprimento	Inóculo	293,11	2	146,55	3,35	3,55	0,057*	ns
	Adubação	5,05	2	2,75	0,06	3,55	0,939	ns
	Inóculo*Adubação	151,40	4	37,85	0,86	2,93	0,502	ns
	Resíduo	785,63	18	43,64				
	Total	1235,66	26					
Peso Úmido	Inóculo	37,55	2	18,77	0,17	3,55	0,84	ns
	Adubação	190,88	2	95,44	0,89	3,55	0,426*	ns
	Inóculo*Adubação	238,88	4	59,72	0,56	2,93	0,694	ns
	Resíduo	1921,33	18	106,74				
	Total	2388,66	26					
Peso Seco	Inóculo	10,57	2	5,28	1,51	3,55	0,394	ns
	Adubação	7,78	2	3,89	1,10	3,55	0,388*	ns
	Inóculo*Adubação	13,58	4	3,39	0,96	2,93	0,429	ns
	Resíduo	63,42	18	3,52				
	Total	95,36	26					

Coeficiente de Variação para Germinação: 13,45%; Comprimento: 4,98; Peso úmido: 11%; Peso seco: 18,38%.

s: significativo; ns: não significativo

O coeficiente de variação (CV) apresentado no rodapé da Tabela 09 fornece a variação dos dados obtidos em relação à média. Quanto menor for o seu valor, mais homogêneos são os dados. O CV para a germinação, , comprimento, peso úmido e peso seco variando o inóculo e a quantidade de adubação apresentou-se menor que 20%, demonstrando assim uma homogeneidade nos dados.

Avaliando se há diferença estatística na germinação de plantas de milho de sementes lavadas pode-se observar na Tabela de Análise de Variância (Tabela 09) que o valor de $F_{\text{calculado}}$ é menor que o F_{tabelado} para as interações entre o inóculo e a adubação. Isso indica que é aceita a hipótese que afirma que os grupos testados (Inóculo e Adubação) não influenciam nos parâmetros estudados para este tipo de cultura.

Segundo Andreolli *et al* (2002), a qualidade da semente é fundamental para o estabelecimento da cultura e o aumento da produtividade, fator este que foi influenciado pela lavagem das sementes, o que alterou os resultados do teste.

5.3 Obtenção dos resultados de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de milho de sementes não lavadas

A Tabela 10 apresenta os valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para plantas de milho de sementes não lavadas sob a variação de adubação e com diferentes inóculos.

Tabela 10. Resultados obtidos para as plantas de milho de sementes não lavadas.

Ensaio	Inóculo	Adubação	Germinação	Comprimento (cm)	Peso úmido(g)	Peso seco(g)
T1	SEM INÓCULO	NPKi	9,66 $\pm$ 0,47	125,73 $\pm$ 2,75	78,00 $\pm$ 0,81	7,46 $\pm$ 0,12
T2	SEM INÓCULO	NPK50i	9,00 $\pm$ 0,81	131,55 $\pm$ 6,06	77,33 $\pm$ 1,63	8,27 $\pm$ 0,71
T3	SEM INÓCULO	SEM NPK	8,33 $\pm$ 1,88	128,99 $\pm$ 1,83	81,00 $\pm$ 4,98	8,06 $\pm$ 0,46
T4	PREPARADO 01	NPKi	8,00 $\pm$ 0,94	134,57 $\pm$ 5,00	89,33 $\pm$ 5,88	9,69 $\pm$ 0,43
T5	PREPARADO 01	NPK50i	8,66 $\pm$ 0,47	124,75 $\pm$ 2,13	83,66 $\pm$ 5,88	9,50 $\pm$ 0,62
T6	PREPARADO 01	SEM NPK	8,33 $\pm$ 0,81	129,30 $\pm$ 5,82	85,33 $\pm$ 1,24	9,93 $\pm$ 0,12
T7	PREPARADO 02	NPKi	7,33 $\pm$ 0,47	131,73 $\pm$ 5,28	78,00 $\pm$ 5,88	8,79 $\pm$ 0,44
T8	PREPARADO 02	NPK50i	7,66 $\pm$ 0,81	134,32 $\pm$ 4,75	81,33 $\pm$ 6,79	8,59 $\pm$ 1,12
T9	PREPARADO 02	SEM NPK	9,00 $\pm$ 0,94	137,26 $\pm$ 4,32	84,00 $\pm$ 5,88	9,99 $\pm$ 1,18

Em estudo, LAZZARETTI et al. (1997), aplicou um produto à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis* sobre a emergência de plântulas de arroz, trigo, feijão e soja. A emergência das plântulas foi avaliada após 15 dias e verificou-se que PBBS (pó-molhável formulado à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*, argila, espalhante e água, moído e seco) não diferiu estatisticamente das testemunhas. Ou seja, a inoculação de PBBS não apresentou grandes diferenças na germinação das plantas. Isto também foi possível observar para a germinação, pois os tratamentos que apresentaram as melhores médias foram que os tratamentos que não receberam nenhum tipo de inóculo em sua semente.

O tratamento que obteve o maior crescimento foi o T9, que recebeu não recebeu adubação NPK e foi inoculado com o Preparado 02. Em estudos de Gomes et al. (2003) sementes de alfaces foram induzidas por C25 (*Bacillus thuringiensis subvar. kenya*) e C116 (*Bacillus pumilus*). Em campo, essas bactérias não promoveram o crescimento da planta.

Para o parâmetro peso úmido, o tratamento T4 foi o que apresentou maiores médias, sendo adubado com a NPK recomendada e inoculado com o Preparado 01. O maior peso seco foi apresentando pelo tratamento T9, que recebeu não recebeu adubação NPK e foi inoculado com o Preparado 02.

Com os resultados apresentados na Tabela 10, realizou-se a Análise de Variância (ANOVA) a um nível de confiança de 95% com auxílio do programa estatístico SISVAR 5.3, para verificar estatisticamente se há diferença na germinação para plantas de milho de sementes não lavadas, variando-se o inóculo e a adubação.

A Tabela 11 apresenta os resultados da Análise de Variância (ANOVA) para germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho de sementes não lavadas, sob a variação de inóculo e adubação.

Tabela 11. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho de sementes não lavadas.

Parâmetro	Causas de Variação	(SQ)	(GL)	(QM)	F _{calculado}	F _{tabelado}	p-valor	Resultado
Germinação	Inóculo	5,64	2	1,88	1,33	3,55	0,296	ns
	Adubação	0,07	2	0,03	0,02	3,55	0,974	ns
	Inóculo*Adubação	6,8	4	1,7	1,2	2,93	0,345	ns
	Resíduo	24	18	1,41				
	Total	36,51	26					
Comprimento	Inóculo	142,41	2	47,47	0,57	3,55	0,642	ns
	Adubação	6,09	2	3,04	0,03	3,55	0,964	ns
	Inóculo*Adubação	226,95	4	56,73	0,68	2,93	0,614	ns
	Resíduo	1417,04	18	83,35				
	Total	1792,5	26					
Peso úmido	Inóculo	293,43	2	97,82	0,93	3,55	0,446	ns
	Adubação	45,4	2	22,7	0,21	3,55	0,807	ns
	Inóculo*Adubação	73,2	4	18,3	0,17	2,93	0,948	ns
	Resíduo	1781,22	18	104,78				
	Total	2193,4	26					
Peso seco	Inóculo	15,41	2	5,13	2,08	3,55	0,14	ns
	Adubação	2,24	2	1,12	0,45	3,55	0,641	ns
	Inóculo*Adubação	1,69	4	0,42	0,17	2,93	0,949	ns
	Resíduo	41,87	18	2,46				
	Total	61,23	26					

Coeficiente de Variação para Germinação: 14,13%; Comprimento: 6,98; Peso úmido: 12,46%; Peso seco: 17,60%.

s: significativo; ns: não significativo

O p-valor apresentou valores maiores que 0,05 para inóculo x adubação para o parâmetro estudado. Portanto, comprova-se que não há uma relação estatística entre o inóculo utilizado e a dosagem de adubação para a germinação, comprimento, peso seco e peso úmido de plantas com sementes de milho não lavadas, a um nível de confiança de 95 %.

LAZZARETTI et al. (1997) observaram em seu estudo que aplicando PBBS em soja e feijão não houve diferença estatísticas para peso seco da parte aérea e das raízes das plantas.

Conceição et al. (2008), observaram que a inoculação com bactérias diazotróficas em milho embora não tenha afetado a germinação das sementes, aumentou o desenvolvimento da parte aérea das plantas, sem promover aumento da massa seca da parte aérea, provavelmente devido à ação das bactérias sobre o alongamento celular, pela turgescência vacuolar.

Apesar de não haver diferença estatística entre os tratamentos, pode-se perceber que as plantas de milho com sementes não lavadas demonstraram melhores resultados do que as plantas de milho com sementes lavadas. A inoculação das sementes com os Preparados 01 e 02 não influenciou significativamente os resultados obtidos, porém os ensaios inoculados com o Preparado 01 obtiveram melhores rendimentos quanto à germinação, comprimento, peso úmido e peso seco.

5.4 Resultados do estudo do efeito do tipo de semente: lavadas e não lavadas para a germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de milho

A Tabela 12 apresenta os resultados da Análise de Variância (ANOVA) para germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho com os resultados do estudo do efeito da lavagem das sementes (lavadas e não lavadas).

Tabela 12. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de milho com o efeito da lavagem da semente.

Parâmetro	Causas de Variação	(SQ)	(GL)	(QM)	F _{calculado}	F _{tabelado}	p-valor	Resultado
Germinação	Inóculo	25,64	2	8,54	9,24	3,55	0,000	s
	Adubação	1,37	2	0,68	0,74	3,55	0,481	ns
	Lavagem	46,29	1	46,29	50,06	2,93	0,000	s
	Inóculo*Adubação*Lavagem	0,85	4	8,54	9,24	3,55	0,000	s
	Resíduo	45,31	44	0,92				
	Total	119,48	53					
Comprimento	Inóculo	131,62	2	43,87	0,78	3,55	0,507	ns
	Adubação	5,34	2	2,67	0,04	3,55	0,953	ns
	Lavagem	44,57	1	44,57	0,79	2,93	0,376	ns
	Inóculo*Adubação*Lavagem	161,08	4	43,87	0,78	3,55	0,000	s
	Resíduo	2737,67	44	55,87				
	Total	3080,29	53					
Peso úmido	Inóculo	1280,20	2	426,73	6,65	3,55	0,007	ns
	Adubação	64,03	2	32,01	0,49	3,55	0,610	ns
	Lavagem	1860,90	1	1860,90	29,00	2,93	0,000	s
	Inóculo*Adubação*Lavagem	93,51	4	426,73	6,65	3,55	0,000	s
	Resíduo	3144,31	44	64,16				
	Total	6442,98	53					
Peso seco	Inóculo	42,51	2	14,17	6,62	3,55	0,007	s
	Adubação	9,19	2	4,59	2,14	3,55	0,127	ns
	Lavagem	22,63	1	22,63	10,57	2,93	0,002	s
	Inóculo*Adubação*Lavagem	0,02	4	14,17	6,62	3,55	0,000	s
	Resíduo	104,85	44	2,13				
	Total	179,23	53					

Coeficiente de Variação para Germinação: 12,85%; Comprimento: 5,68; Peso úmido: 9,10%; Peso seco: 15,30%.

s: significativo; ns: não significativo

O p-valor para a interação entre inoculo, adubação e lavagem das sementes para o parâmetro de germinação apresentou valor menor que 0,05. Portanto, comprova-se que há uma relação estatística entre o inoculo utilizado, a dosagem de adubação e a lavagem da semente. Sendo que o tratamento que apresentou os melhores resultados foi o T9 com sementes não lavadas, recebendo o inoculo do Preparado 02 e sem adubação NPK.

Para o parâmetro de comprimento essa mesma interação à um nível de significância de 95% apresentou o p-valor menor que 0,05, comprovando que há diferença estatística entre os tratamentos. Os vasos que receberam as sementes não lavadas apresentaram melhores rendimentos, sendo que o

tratamento mais eficaz foi o T3 de sementes não lavadas, que não recebeu inoculo em suas sementes e sem adubação NPK.

Através da comprovação da diferença estatística entre os tratamentos com a interação apresentada, pode-se constatar que para o peso seco e peso úmido os tratamentos que obtiveram os melhores resultados foram os que não tiveram as suas sementes lavadas e não receberam a inoculação dos preparados, sendo que o tratamento que obteve o maior peso seco e peso úmido foi o T3 de sementes não lavadas, sem inoculação e sem adubação NPK.

Desta maneira, foi possível comprovar que para a lavagem das sementes teve influência nos resultados, pois todos os tratamentos mais eficazes não receberam a lavagem em suas sementes. Da mesma forma a adubação influenciou os tratamentos, já que para o comprimento, peso seco e peso úmido os tratamentos mais eficazes não receberam adubação NPK. A Inoculação das sementes não apresentou grandes diferenças em relação aos tratamentos que não receberam a mesma, já que para três dos quatro parâmetros estudados, os melhores resultados foram encontrados em tratamentos que não receberam inoculação em suas sementes, comprovando assim que a inoculação não melhorou, mas também não alterou o rendimento da cultura do milho, indicando assim que as plantas estavam no mesmo estado fenológico da testemunha.

5.5 Resultados de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de soja com inóculo na semente

A Tabela 13 apresenta os valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para plantas de soja com inoculo na semente sob a variação de adubação e com diferentes inóculos.

Tabela 13. Resultados obtidos para as plantas de soja com inóculo na semente.

Ensaio	Inóculo	Adubação	Germinação	Comprimento (cm)	Peso úmido(g)	Peso seco(g)
T1	SEM INÓCULO	NPKi	6,66± 0,47	33,96± 3,22	4,63± 0,42	2,53± 0,33
T2	SEM INÓCULO	NPK50i	7,00± 0,47	35,43± 2,73	4,60± 0,96	2,71± 0,51
T3	SEM INÓCULO	SEM NPK	6,66± 0,47	34,90± 0,42	5,07± 0,07	3,06± 0,15
T4	PREPARADO 01	NPKi	8,00± 0,81	34,70± 2,01	4,05± 0,89	2,82± 0,39
T5	PREPARADO 01	NPK50i	7,33± 0,94	31,13± 4,58	3,75± 0,62	2,39± 0,37
T6	PREPARADO 01	SEM NPK	7,33± 0,81	36,63± 4,86	4,96± 0,73	2,98± 0,72
T7	PREPARADO 02	NPKi	8,00± 0,47	33,50± 1,30	4,10± 0,08	2,51± 0,05
T8	PREPARADO 02	NPK50i	7,66± 0,47	32,53± 3,57	3,87± 0,57	1,99± 0,55
T9	PREPARADO 02	SEM NPK	8,00± 0,47	30,86± 1,59	3,72± 0,20	2,48± 0,31

Observou-se que os ensaios T9, T7 e T4 demonstraram os melhores resultados para a germinação, sendo que T9 e T7 foram inoculados com o Preparado 02 e T4 com o Preparado 01.

Para o comprimento o tratamento que obteve melhor rendimento foi o T6, inoculado com o Preparado 01 e sem adubação NPK. Segundo Weaver (1972) os órgãos vegetais de uma planta são alterados morfológicamente pela aplicação de fitoreguladores de modo que o crescimento das plantas possa ser promovido ou inibido.

No estudo de Gomes et al. (2003) houve aumento de massa úmida em mudas de alface induzidas por C116 (*Bacillus pumilus*) em 50,21% e C25 (*Bacillus thuringiensis subvar. kenya*) 42,70%. Silveira et al. (2001) obtiveram resultados onde mudas de pepino bacterizadas com os isolados PEP81 (*B. amyloliquefaciens*) e PEP91 (*Enterobacter cloacae*) apresentaram aumentos de 33,3 e 27,5%, respectivamente, para massa seca total. Esses resultados mostram que bactérias do gênero *Bacillus* podem ser favoráveis ao aumento da massa úmida e seca das plantas.

Os resultados encontrados no experimento divergem um pouco dos apresentados na literatura, pois o maior peso úmido foi obtido pelo tratamento

T6, inoculado com o Preparado 01 e sem adubação NPK, porém o tratamento que apresentou melhores resultados para o peso seco foi o T3 sem adição de inóculo e adubação NPK.

A Tabela 14 apresenta os resultados da Análise de Variância (ANOVA) para germinação, comprimento, peso seco e peso úmido para as plantas de soja com inoculação na semente, sob a variação de inóculo e adubação.

Tabela 14. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de soja com inoculação na semente.

Parâmetro	Causas de Variação	(SQ)	(GL)	(QM)	F _{calculado}	F _{tabelado}	p-valor	Resultado
Germinação	Inóculo	5,85	2	2,92	1,79	3,55	0,194	ns
	Adubação	0,29	2	0,24	0,09	3,55	0,913	ns
	Inóculo*Adubação	1,03	4	0,25	0,15	2,93	0,956	ns
	Resíduo	29,33	18	1,62				
	Total	36,51	26					
Comprimento	Inóculo	29,7	2	14,85	0,73	3,55	0,491	ns
	Adubação	6,78	2	3,39	0,16	3,55	0,846	ns
	Inóculo*Adubação	53,89	4	13,46	0,67	2,93	0,621	ns
	Resíduo	362,06	18	20,11				
	Total	452,42	26					
Peso úmido	Inóculo	3,45	2	1,72	3,43	3,55	0,054	ns
	Adubação	1,2	2	0,6	1,19	3,55	0,325	ns
	Inóculo*Adubação	1,8	4	0,45	0,89	2,93	0,486	ns
	Resíduo	9,03	18	0,5				
	Total	15,49	26					
Peso seco	Inóculo	0,6	2	0,3	1,37	3,55	0,277	ns
	Adubação	0,63	2	0,31	1,46	3,55	0,258	ns
	Inóculo*Adubação	0,44	4	0,11	0,51	2,93	0,728	ns
	Resíduo	3,44	18	0,21				
	Total	5,63	26					

Coefficiente de Variação para Germinação: 17,23%; Comprimento: 13,29; Peso úmido: 16,42%; Peso seco: 17,49%.

s: significativo; ns: não significativo

Como o valor de $F_{\text{calculado}}$ é menor que o F_{tabelado} para todas as interações entre o inóculo e a adubação nos parâmetros de germinação, comprimento, peso seco e peso úmido para as plantas de soja com inoculação na semente, podemos constatar que não há diferença estatística entre os tratamentos avaliados.

Scortichini *et al.* (1989) relata que o tratamento com as bactérias *Bacillus subtilis* afetam negativamente a emergência das plântulas de soja, já Turner & Backman (1991) relata em seus estudos que as bactérias afetam positivamente a emergência das plântulas de amendoim. Esses estudos mostram a divergência de resultados encontrados para a aplicação de *Bacillus subtilis*. O que fica evidente neste experimento, embora os resultados encontrados para plantas que receberam algum tipo de inoculação sejam melhores, as diferenças não são expressivas quando comparadas às testemunhas.

5.6 Resultados de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco das plantas de soja com inóculo no solo

A Tabela 15 apresenta os valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para plantas de soja com inóculo na terra sob a variação de adubação e com diferentes inóculos.

Tabela 15. Resultados obtidos para as plantas de soja com inóculo no solo.

Ensaio	Inóculo	Adubação	Germinação	Comprimento (cm)	Peso úmido(g)	Peso seco(g)
T1	SEM INÓCULO	NPKi	7,33± 0,47	39,96± 1,83	5,62± 0,47	3,96± 0,11
T2	SEM INÓCULO	NPK50i	8,00± 0,94	39,93± 0,44	6,14± 0,33	3,90± 0,20
T3	SEM INÓCULO	SEM NPK	8,00± 1,24	39,00± 0,74	5,61± 0,65	3,72± 0,38
T4	PREPARADO 01	NPKi	8,66± 1,69	37,23± 0,65	5,21± 0,16	3,44± 0,30
T5	PREPARADO 01	NPK50i	7,66± 0,81	37,63± 1,11	5,02± 1,04	3,60± 0,51
T6	PREPARADO 01	SEM NPK	7,33± 0,47	37,56± 0,88	5,64± 0,46	3,53± 0,43
T7	PREPARADO 02	NPKi	7,00± 0,47	40,30± 0,65	5,73± 0,41	3,68± 0,52
T8	PREPARADO 02	NPK50i	8,33± 1,41	41,03± 1,63	6,08± 0,14	3,90± 0,10
T9	PREPARADO 02	SEM NPK	7,33± 0,47	40,30± 1,16	5,85± 0,15	3,90± 0,28

Conforme os valores apresentados na Tabela 15, o tratamento T4 foi o que obteve a melhor média em relação à germinação, esse tratamento recebeu adubação NPKi e inoculação do Preparado 01. Segundo Thakuria *et al.* (2004), é difícil indicar os mecanismos necessários para a maior habilidade da bactéria em promover os crescimento da planta. Discutem, porém, que um mecanismo de promoção, pode ser aumentado em condições de campo.

Para o comprimento o Tratamento T8 apresentou o melhor resultado, sendo inoculado com o Preparado 02 e adubação NPK50i. O tratamento T2 apresentou o maior peso úmido, recebendo a adubação NPK50i e sem inóculo. Para o peso seco o tratamento T1 apresentou a maior média, sendo que ele não recebeu inoculação e foi adubado com NPKi. Demonstrando assim que o parâmetro inóculo não foi um fator determinante para a obtenção de melhores rendimentos.

A Tabela 16 apresenta os resultados da Análise de Variância (ANOVA) para germinação para as plantas de soja com inoculação no solo, sob a variação de inóculo e adubação.

Tabela 16. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de soja com inoculação no solo.

Parâmetro	Causas de Variação	(SQ)	(GL)	(QM)	F _{calculado}	F _{tabelado}	p-valor	Resultado
Germinação	Inóculo	0,51	2	0,25	0,15	3,55	0,857	ns
	Adubação	0,96	2	0,48	0,28	3,55	0,752	ns
	Inóculo*Adubação	5,7	4	1,42	0,85	2,93	0,508	ns
	Resíduo	30	18	1,66				
	Total	37,18	26					
Comprimento	Inóculo	44,64	2	22,32	2,46	3,55	0,113	ns
	Adubação	1,53	2	0,76	0,08	3,55	0,918	ns
	Inóculo*Adubação	1,61	4	0,4	0,04	2,93	0,995	ns
	Resíduo	163	18	9,05				
	Total	210,8	26					
Peso úmido	Inóculo	1,85	2	0,92	0,81	3,55	0,456	ns
	Adubação	0,25	2	0,12	0,11	3,55	0,894	ns
	Inóculo*Adubação	1,09	4	0,27	0,24	2,93	0,91	ns
	Resíduo	20,33	18	1,12				
	Total	23,54	26					
Peso seco	Inóculo	0,62	2	0,31	0,97	3,55	0,396	ns
	Adubação	0,05	2	0,02	0,08	3,55	0,916	ns
	Inóculo*Adubação	0,18	4	0,04	0,14	2,93	0,965	ns
	Resíduo	5,78	18	0,32				
	Total	6,64	26					

Coefficiente de Variação para Germinação: 16,48%; Comprimento: 7,67; Peso úmido: 18,78%; Peso seco: 15,16%.

s: significativo; ns: não significativo

A um nível de confiança de 95 %, comprova-se que não há uma relação estatística entre o inóculo utilizado e a dosagem de adubação para a germinação, comprimento, peso úmido e peso seco de plantas de soja inoculadas no solo.

No experimento os melhores resultados foram obtidos quando os preparados foram aplicados em maiores concentrações e diretamente no solo

como observa-se, nas sementes de soja, onde os tratamentos que receberam a inoculação foram estatisticamente semelhantes aos tratamentos que não receberam a inoculação. Este efeito também foi observado por Lazzaletti (1993) em tratamentos de sementes de trigo, o qual observou que o aumento na concentração de bactéria no meio ao qual as sementes foram mergulhadas, resultava em um maior controle de patógenos.

Os resultados obtidos mostraram que o produto não afetou negativamente a emergência das plântulas das culturas testadas, como relatado por Scortichini *et al.* (1989) para soja, mas também não estimulou a emergência de plântulas como observado por Merriman *et al.* (1974) e Zaspel (1992) para sementes de trigo e Turner & Backman (1991) para sementes de amendoim.

5.7 Resultados do estudo do efeito do tipo de inoculação da semente: inóculos na semente ou no solo.

A Tabela 17 apresenta os resultados da Análise de Variância (ANOVA) para germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de soja, sob a interação entre tipo de inóculo, adubação e local do inóculo (solo e semente).

Tabela 17. ANOVA para o parâmetro de germinação, comprimento, peso úmido e peso seco para as plantas de soja com o efeito do tipo de inoculação da semente.

Parâmetro	Causas de Variação	(SQ)	(GL)	(QM)	F _{calculado}	F _{tabelado}	p-valor	Resultado
Germinação	Inóculo	1,92	2	0,96	6,62	3,55	0,537	ns
	Adubação	1,14	2	0,57	2,14	3,55	0,689	ns
	Local do Inóculo	0,9	1	0,9	10,57	2,93	0,445	ns
	Inoculo*Adubação*Local do Inóculo	2,07	4	0,51	6,62	3,55	0,85	ns
	Resíduo	67,37	44	1,53				
	Total	73,42	53					
Comprimento	Inóculo	104,52	2	52,26	1,58	3,55	0,216	ns
	Adubação	6,66	2	3,33	0,1	3,55	0,904	ns
	Local do Inóculo	40,56	1	40,56	1,23	2,93	0,273	ns
	Inoculo*Adubação*Local do Inóculo	49,52	4	12,38	0,37	3,55	0,824	ns
	Resíduo	1449,19	44	32,93				
	Total	73,42	53					
Peso úmido	Inóculo	2,57	2	1,25	1,57	3,55	0,218	ns
	Adubação	0,68	2	0,34	0,43	3,55	0,653	ns
	Local do Inóculo	24,87	1	24,87	31,23	2,93	0	s
	Inoculo*Adubação*Local do Inóculo	0,54	4	0,13	0,17	3,55	0,952	ns
	Resíduo	35,03	44	0,79				
	Total	63,64	53					
Peso seco	Inóculo	0,44	2	0,22	0,93	3,55	0,398	ns
	Adubação	0,17	2	0,08	0,37	3,55	0,691	ns
	Local Inóculo	15,37	1	15,37	64,93	2,93	0	s
	Inoculo*Adubação*Local do Inóculo	0,41	4	0,11	0,42	3,55	0,791	ns
	Resíduo	10,41	44	0,24				
	Total	26,81	53					

Coefficiente de Variação para Germinação: 16,42%; Comprimento: 16,58; Peso úmido: 17,89%; Peso seco: 15,26%.

s: significativo; ns: não significativo

Para os parâmetros de germinação e comprimento pudemos constatar que o valor de $F_{\text{calculado}}$ é menor que o F_{tabelado} para todas as interações apresentadas, comprovando assim que não há diferença estatística entre os tratamentos avaliados para estes dois parâmetros.

Para os parâmetros de peso úmido e peso seco a interação entre inóculo, adubação e local do inóculo (semente e solo) apresentou p-valor maior do que 0,05, confirmando assim que não há diferença estatística entre os

tratamentos realizados. Porém o efeito do Local do Inóculo foi significativo, sendo necessária a aplicação do teste de Tukey, conforme está apresentado na tabela 18. Ressaltando assim, que os tratamentos que obtiveram os melhores resultados a inoculação dos Preparado 01 e 02 foi feita diretamente no solo, sendo que o melhor tratamento para estes dois parâmetros foi o T8 que recebeu a inoculação diretamente no solo com o Preparado 02 e adubação 50% da recomendada.

Tabela 18. Teste de Tukey para o peso úmido e peso seco das plantas de soja com o efeito do tipo de inoculação da semente.

Ensaio	Inóculo	Adubação	Local do Inóculo	Peso Úmido	Peso Seco
				Teste deTukey	Teste deTukey
T1	Sem inóculo	NPKi	Semente	4,63 ^a	2,53 ^a
T2	Sem inóculo	NPK50i	Semente	4,60 ^a	2,71 ^a
T3	Sem inóculo	SEM NPK	Semente	5,07 ^a	3,06 ^a
T4	Preparado 01	NPKi	Semente	4,05 ^a	2,81 ^a
T5	Preparado 01	NPK50i	Semente	3,75 ^a	2,39 ^a
T6	Preparado 01	SEM NPK	Semente	4,96 ^a	2,98 ^a
T7	Preparado 02	NPKi	Semente	4,10 ^a	2,51 ^a
T8	Preparado 02	NPK50i	Semente	3,87 ^a	2,31 ^a
T9	Preparado 02	SEM NPK	Semente	3,72 ^a	2,56 ^a
T1	Sem inóculo	NPKi	Solo	5,62 ^a	3,96 ^{ab}
T2	Sem inóculo	NPK50i	Solo	6,14 ^{ab}	3,90 ^{ab}
T3	Sem inóculo	SEM NPK	Solo	5,61 ^a	3,71 ^{ab}
T4	Preparado 01	NPKi	Solo	5,21 ^a	3,53 ^a
T5	Preparado 01	NPK50i	Solo	5,02 ^a	3,60 ^{ab}
T6	Preparado 01	SEM NPK	Solo	5,64 ^a	3,44 ^a
T7	Preparado 02	NPKi	Solo	5,79 ^{ab}	3,68 ^{ab}
T8	Preparado 02	NPK50i	Solo	6,08 ^{ab}	3,90 ^{ab}
T9	Preparado 02	SEM NPK	Solo	5,85 ^{ab}	3,74 ^{ab}

Araujo & Hungria (1999) avaliaram o uso do *B. subtilis* na cultura da soja e observaram que houve um aumento na nodulação e no crescimento das plantas, além de um aumento significativo no rendimento da cultura no campo. Segundo os autores, foi observado que a estirpe de *B. subtilis* utilizada apresentou grande produção de fitohormônios (ácido indolacético e indolbutírico) e antibióticos durante seu crescimento (ARAUJO et al., 2005).

Para Bewley & Black (1978) a emergência da plântula pode ser estimulada pela acidificação da parede celular durante o processo germinativo, sendo nesse caso a ação da auxina fator essencial. Vieira & Castro (2001), estudando a ação de hormônios na germinação de sementes de soja observaram que concentrações intermediárias do hormônio aumentaram significativamente a germinação, que condizem com os resultados encontrados, onde os tratamentos que receberam a inoculação no solo dos Preparados 01 e 02 apresentaram melhores resultados.

Já foi constatado que a estirpe de *Bacillus subtilis*, produz fitohormônios durante seu desenvolvimento, os quais também proporcionaram estímulo no desenvolvimento radicular da soja (ARAUJO et al., 2005).

Com estes resultados é possível afirmar que para as plantas de soja a inoculação e a diminuição da adubação melhoraram os rendimentos da cultura para peso úmido e peso seco. Consequentemente os melhores resultados foram apresentados pelos tratamentos que receberam o inóculo diretamente no solo, fato que é explicado por Jjemba & Alexander (1999) que concluíram que a habilidade das bactérias em sobreviver em grandes números no solo é um importante fator a determinar seu sucesso na colonização subsequente da rizosfera. Isto é, há que se considerar também a presença dos outros microrganismos do solo, que, em última análise, são os competidores que uma RPCP introduzida deve sobrepujar para manter-se no solo ou até mesmo para conseguir penetrar na raiz.

Assim, um caminho que vem sendo cada vez mais considerado é a definição de sistemas de manejo, de modo a facilitar o estabelecimento de microrganismos benéficos, em vez de simplesmente tentar introduzir um microrganismo num habitat que, muito provavelmente, já está em equilíbrio. Como já se provou que a rotação de culturas e o manejo de resíduos

influenciam populações microbianas do solo, podem-se selecionar sistemas de produção que favoreçam o desenvolvimento de microrganismos benéficos, como, por exemplo, a manipulação de exsudatos – pela escolha adequada de cultivares vegetais – que favoreceriam a espécie de interesse ou o isolado introduzido (Sturz & Nowak, 2000).

Por esse motivo, Sturz & Nowak (2000) sugerem que seqüências de culturas podem favorecer o estabelecimento de associações vantajosas de populações endofíticas bacterianas, levando ao desenvolvimento e manutenção de alelopatias benéficas hospedeiro-endófito. A utilização de rizobactérias em sistemas de produção de cultivos sustentáveis requererá estratégias para criar e manter populações bacterianas benéficas dentro das culturas (endófitos) e também nos solos em voltas dessas culturas.

Segundo Atkinson & Watson (2000), relatando as conclusões do Encontro para o Estabelecimento de uma Rizosfera Benéfica, um dos desafios-chave para o futuro será ligar a dinâmica das populações rizosféricas, que têm sido melhor entendidas, com a dinâmica dos sistemas planta-raiz e sua longevidade. Disso depende o sucesso na inoculação de microrganismos em plantas e o manejo de microrganismos rizosféricos.

6.CONCLUSÃO

Em relação às plantas de milho, pudemos observar que as sementes que não foram lavadas obtiveram melhores resultados do que as sementes que receberam a lavagem.

Para as plantas de soja, as que demonstraram melhores rendimentos foram as que receberam inoculação diretamente na terra e não na semente.

Comparando os resultados encontrados para as plantas de soja e milho, pudemos verificar que em todos os parâmetros estudados as plantas de soja alcançaram maiores médias. Ou seja, os microorganismos foram mais eficientes na cultura da soja.

Segundo a literatura, as bactérias do gênero *Bacillus* deveriam auxiliar no crescimento, na germinação, no peso úmido e no peso seco das plantas estudadas. Entretanto, segundo os dados obtidos, não houve grandes benefícios com a inoculação dos microorganismos.

Mesmo que para uma grande parte dos testes os resultados encontrados foram melhores para os tratamentos que receberam algum tipo de inoculação, a variação não foi realmente expressiva em comparação aos dados de todos os testes.

7. SUGESTÕES

Estudar o efeito dos Preparado 01 e 02 aplicados diretamente no solo em diferentes doses, já que neste estudo sua dosagem foi fixa.

Avaliar esta metodologia em condições de campo em trabalhos futuros, para que ela possa ser usada em produção de grãos de larga escala.

8. REFERÊNCIAS

ALBERTON, P.R. Realidade e perspectivas do milho: uma análise conjuntural e intersetorial (Dissertação de Mestrado). Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2009.

AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendações de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.241-248, 2002.

ARAUJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/B. *elkanii*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1633-1643, 1999.

ARAÚJO, L.A.N.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p.771-777. 2005.

ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e agrotecnologia**, v. 2, p. 456-462, 2008.

ARKHIPOVA, T.N.; VESELOV, S.U.; MELENTIEV, A.I.; MARTYNENKO, E.V. ;. KUDYAROVA, G.R. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant and Soil**, v. 272, p. 201–209, 2005.

ASGHAR, H.N ; ZAHIR, Z. A.; ARSHAD, M ; KHALIQ, A. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting

activities in *Brassica juncea* L. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 231–237, 2002.

ATKINSON, D.C. & WATSON, A. The beneficial rhizosphere: a dynamic entity. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 99-104, 2000.

BATISTA, H. R; SILVA, Ariana C. ; LIMA, E. P. C. A Importância da Soja para o Agronegócio Brasileiro: Uma Análise sob o Enfoque da Produção, Emprego e Exportação. In: V Encontro de Economia Catarinense, 2011, Florianópolis - SC. V EEC - Crescimento e Sustentabilidade, 2011.

BISWAS, J. C., LADHA, J. K.; DAZZO, F. B. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. **Agronomy Journal**, v.92, p.880-886, 2000.

BEDDINGTON, J. Produção de alimentos precisa crescer 40% em 20 anos. 2011. Disponível em: www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2011/01/110124_relatorio_alimentos_rc.shtml. Acesso em: 27 de abril de 2013.

BENTES, J.L.S., ROMEIRO, R.S. & PAUL, P.A. Evidência de resistência sistêmica induzida em tomateiro à mancha bacteriana pequena (*P. syringae* pv. *tomato*) e à mancha alvo (*C. cassiicola*) pela microbiolização de sementes com rizobactérias. **Anais**, 210 Congresso Paulista de Fitopatologia, Botucatu, SP. 1998. p.76.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds**. New York: Springer Verlag, 1978. 306 p.

BUNDY, J.G.; PATON, G.I; CAMPBELLA, C.D. Combined microbial community level and single species biosensor responses to monitor recovery of oil polluted soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, p.1149–1159, 2004.

Different Verticillium Host Plant. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68:3328-3338.

BURR TJ, SCHROTH MN, SUSLOW T. Increased Potato Yields by Treatment of Seed-Pieces with Specific Strains of *Pseudomonas Fluorescens* and *P. putida*. *Phytopathology*. 1978

CHANWAY, C. P.; TURKINGTON, R.; HOLL, F. B. Ecological implications of specificity between plants and rhizosphere microorganisms. *Advances in Ecological Research*, v.21, p.121-169, 1991.

CAMPELLO, F.B.B. Controle biológico de *Cylindrocladium scoparium* Morgan, agente causal do tombamento de mudas de *Eucalyptus* spp., com bactérias antagonistas. (Dissertação de Mestrado). Recife. Universidade Federal Rural Pernambuco. 1992.

CATTELAN, A. J. Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 36p (Embrapa Soja. Documentos, 139).

COELHO, L. F.; FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; AMBROSANO, G. M. B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1413-1420, 2007.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. 5º Levantamento Grãos Safra. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em 23 de abril. de 2013.

DA SILVA, A.C; DE LIMA, E.P.C; BATISTA, H.R. A importância da soja para o agronegócio brasileiro: uma análise sob o enfoque da produção, emprego e exportação. 2011. Disponível em: http://www.apec.unesc.net/V_EEC/sessoes_tematicas/Economia%20rural%20e%20agricultura%20familiar/A%20IMPORT%C3%A2NCIA%20DA%20SOJA%20PARA%20O%20AGRONEG%C3%93CIO%20BRASILEIRO.pdf .

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil, Dordrecht**, v. 212, p 155-164, 1999.

ECHART, C. L. e CAVALLI-MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismo de tolerância e seu controle genético. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.3, p.531-541, 2001.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de Métodos de análise de solos**. 2ª ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 212p., 1997.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Nutrição e Adubação do Milho**. 2013. Disponível em: sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/feraduba.htm. Acesso em: 30 de abril de 2014.

FIGUEIREDO, M.V.B., MARTINEZ, C.R., BURITY, H.A., CHANWAY, C.P. Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen

fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v.24, p.1187-1193.

FREITAS, S.S. & PIZZINATTO, M.A. Interações de *Pseudomonas* sp. e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na rizosfera de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathologica** 17:105-112. 1991.

FREITAS, S.S. Desenvolvimento de plântulas de café pela inoculação de *Pseudomonas* sp. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 13:31-34. 1989.

FREITAS, S.S. Rizobactérias e suas interações com plantas e microrganismos. Piracicaba, 1994. 112p. **Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba.

FREITAS, J.R.; BANERJEE, M.R.; GERMIDA, J.J. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v.24, p.358-364, 1997.

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.

FRIDLENDER, M.; INBAR, J.; CHET, I. Biological control of soilborne plant pathogens by a B-1,3-glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. **Soil and Biology Biochemistry**, Oxford, v.25, p.1211-1221, 1993.

GOMES, A.M.A., MARIANO, R.L.R., SILVEIRA, E.B.; & MESQUITA, J.C.P. Isolamento, seleção de bactérias e efeito de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira** 21:699-703. 2003.

GRAY, E.J. & SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology And Biochemistry** 37: 395-412, 2005.

GUPTA, A., GOPAL, M.; TILAK, K. V. (2000). Mechanism of plant growth promotion by rhizobacteria. **Indian Journal Experimental Biology**, v.38, p. 856-862, 2000.

GUTIÉRREZ-MAÑERO, F.J; RAMOS-SOLANO, B.; PROBANZA, A.; MEHOUACHI, J; TADEO, F.R.; TALON, M. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. **Physiologia Plantarum**, v.111, p.206–211, 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, 2006. p. 43-93.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio na soja. In: ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p. 9-89.

JJEMBA, P. K. & ALEXANDER, M. Possible determinants of rhizosphere competence of bacteria. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 31, n. 4, p. 623-632, 1999.

JOO, G.J.; KIM, Y.M; LEE, I.J; SONG, K.S; RHEE, I.K. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. **Biotechnology Letters**, v.26, p.487-491, 2004.

KLOEPPER JW, SCHROTH MN, MILLER TD. Effects of Rhizosphere Colonization by Plant Growth Promotion Rhizobacteria on Potato Plant Development and Yield. *Phytopathology*, 1980.

KLOEPPER, J. W.; SCHORTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 71, p. 642-644, 1981.

KLOEPPER, J.W. Current status and future trends in biocontrol research and development in the U.S. **Anais**, International Symposium on Clean Agriculture. Sapporo, Japan. 1997. pp.49-52.

LAVIE, S.; STOTZKY, G. Interactions between clay minerals and siderophores affect the respiration of *Histoplasma capsulatum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 51, p. 74-79, 1986.

LAZZARETI E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientiae agricola**, v. 54, p. 89-96, 1997.

LUZ, W.C. Controle microbiano de *Pyricularia oryzae* em sementes de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, p.134, 1990a.

LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p.1-50, 1996.

LUZ, W.C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.3, 2001.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fósforo, 1997. 201 p.

MANTOVANELLO, C.M. & MELO, I.S. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathologica** 20:123-126. 1994.

MARIANO RLR, KLOPPER JW. Método alternativo de biocontrole: Resistência sistêmica induzida por rizobactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas** 8:121–137, 2000.

MARIANO RLR; SILVEIRA EB; ASSIS SMP; GOMES AMA; NASCIMENTO AR; DONATO VMTS. 2004b. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica** 1: 89-111.

MELO, I.S. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. MELO, I.S; AZEVEDO, J.L. In: **Ecologia microbiana** - Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. 488p.

MERCANTE, F. M. *Uso de inoculante garante economia de 3 bilhões de dólares na cultura da soja no país*. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/noticias/artigos>>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2014.

MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Brasil Projeções do Agronegócio 2011/2012 a 2021/2022. Brasília. 2012. Disponível em <www.agricultura.gov.br>. Acesso em 25 de maio de 2013.

NEUMANN, G; TERAS, R; MONSON, L.; KIVISAAR, M; SCHAUER, F.; HEIPIEPER, H.J. Simultaneous Degradation of Atrazine and Phenol by *Pseudomonas* sp. Strain ADP: Effects of Toxicity and Adaptation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 1907–1912, 2004.

OWEN. A; ZDOR, R.. Effect of cyanogenic rhizobacteria on the growth of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and corn (*Zea mays*) in autoclaved soil and the influence of supplemental glycine. **Soil Biology and Biochemistry**, v.33, p.801- 809, 2001.

PEDRINHO, E.A.N. **Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento de milho (*Zea mays* L.)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, 87p. 2009.

PEIXOTO, A.R., MARIANO, R.L.R., MICHEREFF, S.J. & OLIVEIRA, S.M.A. Ação antagonica de *Pseudomonas aeruginosa* a *Pseudomonas solanacearum* e efeito no desenvolvimento de plântulas de tomate. **Summa Phytopathologica** 21:219-224. 1995.

PERONDI, N.L., DA LUZ W.C. & THOMAS, R. Controle microbiológico da giberela do trigo. **Fitopatologia Brasileira** 21:243-249. 1996.

PIDELLO, A. The effect of *Pseudomonas fluorescens* strains varying in pyoverdine production on the soil redox status. *Plant and Soil* 253: 373–379, 2003.

RAAIJMAKERS, J.M; WELLER, D.M; THOMASHOW, L.S. Frequency of Antibiotic-Producing *Pseudomonas* spp. in Natural Environments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 3, p. 881–887, 1997.

RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, Canberra, v. 28, n. 9, p. 897-906, 2000.

SCHROTH, M.N.; HANCOCK, J.G. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. **Science**, v. 216, p. 1376-1381, 1982.

SCORTICHINI, M.; ROSSI, M.P., RICCI, B.; NDZOUNBA, B. Soybean (*Glycine max* (L.) Merr) seed decay associated with *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, in Gabon. **FAO Plant Protection Bulletin**, v.37, n.2, p.87-91, 1989.

SILVA V.N., SILVA L.E.S.F., FIGUEIREDO M.V.B. Atuação de rizóbios com rizobactérias promotoras de crescimento em plantas na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Acta Sci Agron** 28:407–412, 2006.

SILVEIRA, E.B., GOMES, A.M.A., MARIANO, R.L.R. & SILVA NETO, E.B. Utilização de bactérias na produção de mudas de pepino. **Horticultura Brasileira**. 2005.

STANIER, R.Y. et al. O mundo dos micróbios. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 1969. 741p.

STEIN, R.L.B. Efeito de *Pseudomonas* spp. fluorescentes no controle *in vitro* de fungos do solo e no desenvolvimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Dissertação de Mestrado). Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 1988.

STURZ, A. V. & NOWAK, J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 183-190, 2000.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, v. 17, p. 319-339, 1999.

TEIXEIRA, D.A; ALFENAS, A.C; MAFIA, R.G; LUIZ A. MAFFIA; FERREIRA, E.M. Evidências de indução de resistência sistêmica à ferrugem do eucalipto mediada por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.4, 2005.

TURNER, JT; BACKMAN, PA Fatores relacionados ao amendoim rendimento aumenta após tratamento de sementes com *Bacillus subtilis* . **doenças de plantas**, v.75, n.4, p.347-353, 1991.

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

WENHUA, T.; HETONG, Y. Research and application of biocontrol of plant diseases and PGPR in China. **International bacterial wilt symposium**, 1997.

ZAADY, E.; PEREVOLOTSKY, A.; OKON, Y. Promotion of plant growth by inoculum with aggregated and single cell suspensions *Azospirillum brasilense* Cd. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 25, p. 819-823, 1993.

ZAGO, V.C.P. Influência de diferentes sistemas de cultivo de olerícolas na diversidade das populações de *Pseudomonas* spp. fluorescentes. Seropédica. Rio de Janeiro. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2003. Tese de doutorado – UFRJ.

ZHANG, S. A.; XU, W. M.; YAN, Z. N.; MEI, R. H. Research and commercialization of yield-increasing bacteria (YIB) in China. **Advances in biological control of plant diseases**, 2006.