



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

ALEX JOÃO ALVES

**INFLUÊNCIA DE *Bacillus* spp. NOS ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO
SOLO E NO DESENVOLVIMENTO DA SOJA E DO MILHO**

BANDEIRANTES, PR - BRASIL

2018

INFLUÊNCIA DE *Bacillus* spp. NOS ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO
SOLO E NO DESENVOLVIMENTO DA SOJA E DO MILHO

ALEX JOÃO ALVES

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

Orientador: Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto

BANDEIRANTES, PR –BRASIL

2018

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

JA474i João Alves, Alex
INFLUÊNCIA DE *Bacillus* spp. NOS ATRIBUTOS
QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO SOLO E NO
DESENVOLVIMENTO DA SOJA E DO MILHO / Alex João
Alves; orientador Leopoldo Sussumo matsumoto -
Bandeirantes, 2018.
22 p.

Agronomia) - Universidade Estadual do Norte do
Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, 2018.

1. Rizobactérias. 2. Bactérias Promotores de
crescimento de Plantas. 3. Inoculantes. I. Sussumo
matsumoto, Leopoldo, orient. II. Título.

ALEX JOÃO ALVES

INFLUÊNCIA DE *Bacillus* spp. NOS ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO
SOLO E NO DESENVOLVIMENTO DA SOJA E DO MILHO

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto– UENP

Prof. Dr. Luis Eduardo Azevedo Marques Lescano – UENP

Profa. Dra. Karina Aline Alves– UNOPAR

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

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me concedido a oportunidade de realização desse mestrado.

Aos meus pais, Antonia Detomazi Alves e Nelcino Alves, por todo o apoio durante o período de mestrado.

A minha esposa Pâmela Regina Fernandes que sempre ao meu lado me dando força para prosseguir com os estudos.

Ao Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto pela orientação e ensinamentos durante o período de graduação e mestrado.

A todos os amigos que me ajudarão a executar esse projeto sem medirem esforços, enfrentando várias dificuldades, mas sempre com foco e força.

Em especial para Aninha e Rafael onde o apoio em momentos críticos foi essencial para a conclusão desse trabalho.

ALVES, Alex João. **Influência de *Bacillus* spp. nos atributos químicos e microbiológicos do solo e no desenvolvimento da soja e do milho.** 2018. (Dissertação) Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2018.

RESUMO

A soja e o milho estão difundidos no mundo inteiro, tendo grande importância econômica no Brasil. As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas habitam o solo e com frequência são isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas. As bactérias do gênero *Bacillus* possuem grande potencial para serem usadas como agentes de controle biológico, mantendo assim a viabilidade das sementes. Portanto, O objetivo desta pesquisa foi avaliar a inoculação de bactérias promotoras de crescimento (***Bacillus*spp.**) no desenvolvimento da cultura do milho e soja. As bactérias utilizadas nesse trabalho fazem parte da biblioteca de microrganismos do Laboratório do Solo da Universidade Estadual do Norte do Paraná. Estas foram isoladas de amostras de solo de três anos de adubo biológico. Das cepas isoladas foram selecionadas três (3) bactérias do gênero *Bacillus*, que foram denominados no trabalho de Isolados 1, 2 e 3. Os trabalhos foram realizados com as culturas da soja variedade BMX POTÊNCIA e milho variedade KWS 9004. Os tratamentos utilizados no experimento de soja e milho estão expostos na (Tabela 1). A inoculação das bactérias foram realizadas antes do plantio das culturas. As aplicações dos tratamentos foi realizada momentos antes do plantio das culturas, ambas as sementes foram tratadas à sombra, num volume de calda de 800 mL/100 kg de sementes. Em todos os tratamentos, inclusive a testemunha foi realizada a aplicação do Fungicida/Inseticida Standak Top na dose de 2,0 mL/100 kg de sementes. Foram realizadas avaliações quanto a análise química realizada na pós-colheita da soja e do milho, análise de atributos microbiológicos do solo, parâmetros de crescimento da planta (parte aérea, raiz e produtividade). O objetivo desta pesquisa foi avaliar a inoculação de bactérias promotoras de crescimento (***Bacillus*spp.**) no desenvolvimento da cultura do milho e soja. Pode se concluir que na soja observou a interação no fator PH e na mineralização de P e K, ocorreu um aumento na população microbiana no tratamento B3-2, porem dentre os tratamentos observa se uma queda de rendimento no tratamento B1-2. No milho observou uma interação com o fator P e K que se mostraram significante com relação a testemunha porem sem diferirem entre os tratamentos inculados, ocorreu também um acréscimo na população microbiana nos tratamentos B1-2 e B2-1, com um aumento de produtividade no tratamento B2-1. A inoculação de *Bacillus* spp. demonstrou resultados distintos nas cultura de soja e milho, há necessidade de mais ensaios com as bactérias (*Bacillus* spp.) tais como protetores de células que mantenham viáveis no período de germinação da semente e outros variáveis ambientais que podem interferir na sobrevivência das bactérias, no entanto, há grande potencial para desenvolvimento de inoculante comercial.

Palavra-chave: Rizobactérias; Bactérias Promotores de crescimento de Plantas; Inoculantes

ALVES, Alex João. **Influence of *Bacillus* spp. bacterial strain in chemical and microbiological attributes of the soil and in the development of soy bean and corn.**2018.(Dissertação) Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Nortedo Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2018.

ABSTRACT

Soybean and corn have spread worldwide, playing an important role in the economy of Brazil. Plant growth-promoting rhizobacteria are present in the soil and are frequently isolated from the rhizosphere of several crops. Bacteria of the genus *Bacillus* have great potential to be used as biological control agents, keeping the seed viability. Therefore, the objective of this work was to evaluate the agronomic efficacy of the application of plant growth-promoting bacteria *Bacillus* spp. in the composition of the soil in fields of soy bean and corn crops and in crops previously chemically protected. The bacteria used in this work are part of the collection of microorganisms of Laboratorio do Solo of Universidade do Norte do Paraná. They were isolated from samples of soil which had undergone biological fertilization for three years.. From the isolated strains, three bacteria of the genus *Bacillus* were here named isolates 1, 2, and 3. Treatments were performed in soy bean cultivar BMX POTÊNCIA, and corn cultivar KWS 9004. Treatment used in the soybean experimentare exposed in (Table 1).Bacteriahad been inoculated before seeding. Treatment applications were performed before seeding. Both seeds were treated in shadow, with a mixture volume of 800 ml/100 kg of seed. All treatments, including control, received an application of fungicide/insecticide Standak Top at 2,0 ml/100kg. Evaluations included chemical analysis in post-harvest of soy bean and corn, soil microbiological attributes, plant-growth parameters (aerial part, roots, and productivity).The objective of this research was to evaluate the inoculation of growth promoting bacteria (*Bacillus* spp.) In corn and soybean development. It can be concluded that in soybeans it was observed the interaction in the PH factor and the mineralization of P and K, there was an increase in the microbial population in the B3-2 treatment, but among the treatments it was observed a drop in yield in the B1-2 treatment.In the maize, it was observed an interaction with the factor P and K that were significant in relation to the control, but did not differ among the inoculated treatments, there was also an increase in the microbial population in the treatments B1-2 and B2-1, with an increase of productivity in the treatment B2-1.The inoculation of *Bacillus* spp. demonstrated different results in soybean and maize cultures, there is a need for further testing with bacteria such as cell protectors that maintain viable in the period of seed germination and other environmental variables that may interfere in the survival of the bacteria, however, there is great potential for commercial inoculant development.

Key words: Rhizobacteria; Plant Growth Promotion Bacteria; Inoculants.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamento de sementes com bactérias promotoras de crescimento de plantas na cultura da soja e do milho e a concentração utilizada.....	11
Tabela 2. Análise química realizada pós-colheita de soja, das áreas com inoculação de bactérias <i>Bacillus</i> spp.....	17
Tabela 3. Análise dos atributos microbiológicos do solo na cultura da soja inoculadas com bactérias do gênero <i>Bacillus</i> spp. em duas doses	18
Tabela 4. Parâmetros de crescimento da planta (parte aérea, raiz e produtividade), com inoculação de bactérias <i>Bacillus</i> spp. em duas doses.....	18
Tabela 5. Análise química realizada pós-colheita de milho, das áreas com inoculação de bactérias <i>Bacillus</i> spp.....	19
Tabela 6. Análise dos atributos microbiológicos do solo na cultura do milho, sementes inoculadas com bactérias do gênero <i>Bacillus</i> spp na dose 1 (comercial) e 2 (dobro da dose)	20
Tabela 7. Parâmetros de crescimento da planta (parte aérea, raiz e produtividade), com inoculação de bactérias <i>Bacillus</i> spp. em duas doses	20

LISTA DE SIGLAS

- M.O.** – Matéria Orgânica do Solo
- pH_{CaCl₂}**– pH de Cloreto de Cálcio
- P** – Fósforo
- K**- Potássio
- Ca** – Cálcio
- Mg** – Magnésio
- Al** – Alumínio
- H+Al** – Acidez potencial
- CTC** – Capacidade de Troca Catiônica
- V%** - Saturação de Base
- B1-1** - *Bacillus* spp.1 dose 1
- B1-2** - *Bacillus* spp.1 dose 2
- B2-1** -*Bacillus* spp.2 dose 1
- B2-2** -*Bacillus* spp.2 dose 2
- B3-1** -*Bacillus* spp.3 dose 1
- B3-2** -*Bacillus* spp.3 dose 2
- T** - Testemunha
- COT**) - Carbono Orgânico total
- (C_BMS)**- Biomassa de Carbono Microbiano
- (qMIC)** - Quociente Microbiano
- (RBS)** - Respiração Basal do Solo
- (qCO₂)** - Quociente Metabólico do Solo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Cultura da Soja	2
2.2 Cultura do Milho	3
2.3 Tratamento de sementes	3
2.4 Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP).....	4
2.4.1 Bactérias promotoras de crescimento	5
2.4.2 Bacillus spp.	6
2.5 Controle Biológico de Doenças	8
2.6 População Microbiana do solo	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1. Delineamento Experimental.....	11
3.2. Atributos Químicos e Microbiológicos do Solo	12
3.2.1. Determinação de pH e Nutrientes químicos	12
3.2.2. Determinação de Matéria Orgânica.....	12
3.2.3. Determinação da Saturação por bases	12
3.2.4. Determinação do Carbono Orgânico Total (COT).....	13
3.2.5. Determinação da Biomassa de Carbono Microbiano (C_BMS).....	13
3.2.6. Determinação da Respiração Basal do Solo (RBS)	15
3.2.7. Determinação do Quociente Metabólico do solo (qCO ₂).....	15
3.2.8. Determinação do Quociente Microbiano (qMIC).....	16
3.2.9. Avaliação agronômica	16
3.3. Análise Estatística	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 Ensaio 1 - Soja (<i>Glycine max L</i>)	17
4.2 Ensaio 2 – Milho (<i>Zea mays</i>).....	19
5. CONCLUSÕES.....	21
6. REFERÊNCIAS	22

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja e do milho são atividades agrícolas em crescente expansão no Brasil. Cultivadas em todo o país essas culturas são usadas tanto diretamente como alimento, quando para usos alternativos como, por exemplo, na fabricação de ração animal, óleos e combustível. Atualmente as regiões com maior produção no Brasil são as regiões Sul (28,4%) e Centro Oeste (47,0%). No sul a liderança é do Paraná com produção safra 2017/2018 de 19.170 mil toneladas de milho (16,1%) e 12.023 mil toneladas de soja (14,2%) e no Centro Oeste, Mato Grosso, com produção de 32.306 mil toneladas de soja (27,1%) e 26.132 mil toneladas de milho (30,7%) (EMBRAPA, 2018; CONAB, 2018).

Visando maior aumento na produtividade, e 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 (COELHO et al., 2007). As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas 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; RODRIGUES; FRANÇA, 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, por disponibilização de nutrientes e produção de fitohormônio de crescimento (LAZARETTI; BETTIOL, 1997).

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

Sendo assim, produtos à base de bactérias do gênero *Bacillus*, podem ser utilizadas almejando o aumento da produtividade do milho e da soja, beneficiando assim o desenvolvimento das mesmas.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a influência da inoculação na semente de (*Bacillus*spp.) no desenvolvimento da cultura do milho e soja.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da Soja

A soja (*Glycine max L*) está difundida no mundo inteiro, tendo grande importância econômica. No Brasil é o carro chefe da produção e vem ganhando ainda mais espaço pelo alto valor de mercado e diferente gama de produtos gerados a partir de seus grãos. No país, foi produzido o montante de 118,8 milhões de toneladas da oleaginosa na safra 2017/2018 (CONAB, 2018). O complexo da soja possui grande poder de geração de renda e empregos, nos mais variados setores da cadeia produtiva. Atualmente, o Brasil está no posto de maior exportador de soja no cenário mundial, ficando atrás dos EUA apenas no quesito produtividade (FIESP, 2017 apud FERRER, 2017).

Na safra 2017/2018 a produção mundial do grão foi de 336,699 milhões de toneladas em uma área total de 124,580 milhões de hectares (USDA, 2018). No Brasil a produção da soja alcançou a marca de 118,885 milhões de toneladas, ficando com o posto de segundo maior produtor mundial, atrás apenas dos Estados Unidos que produziram dois milhões de toneladas a mais que o Brasil. O Paraná foi o segundo maior produtor de soja do Brasil, com 19,170 milhões de toneladas (16,1%), ficando atrás do Estado de Mato Grosso com 32,306 milhões de toneladas(27,1%)(CONAB, 2018).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a indústria brasileira transforma anualmente cerca de 30,7 milhões de toneladas de soja, produzindo 5,8 milhões de toneladas de óleo comestível e 23,5 milhões de toneladas de farelo protéico. Além disso, a soja e o farelo de soja brasileira possuem altos teores de proteína, o que permite sua entrada em mercados extremamente exigentes como os da União Européia e do Japão (MAPA, 2018).

Como as demais culturas, a soja enfrenta problemas fitossanitários que comprometem a produtividade, bem como a qualidade final do produto. A Organização Mundial para Alimentação e Agricultura (FAO) considera que os fitopatógenos (agentes causais de doenças) são responsáveis por 13,3% das perdas na produção agrícola, o que fica claro que há necessidade urgente de aprimoramento do manejo de doenças na cultura da soja (FAO, 2017).

Com a expansão do cultivo da soja surgiram no Brasil os problemas fitossanitários com cerca de 40 doenças causadas por nematóides, bactérias, vírus e, principalmente, fungos (HENNING, 2009).

2.2 Cultura do Milho

A população mundial, atualmente, é de 7,6 bilhões de pessoas, podendo alcançar a marca de 8,6 bilhões até 2030, e de 9,8 bilhões em 2050, com esse ritmo o planeta deve chegar em 2100 com 11,2 bilhões de seres humanos, alcançando um crescimento de 47,3% em relação ao presente, conforme a Organização das Nações Unidas (ONU, 2017) e, conseqüentemente a demanda de alimentos deverá ser duplicada até o final da primeira metade do século (DAGIOS, 2018).

O Brasil possui, atualmente, cerca de 61,2 milhões de hectares cultivados, destinados à produção de cereais, leguminosas e oleaginosas, com uma estimativa de colheita para o ano de 2018, de aproximadamente 226,1 milhões de toneladas. Onde o milho (*Zea mays*) que ocupa cerca de 16,6 milhões de hectares produzindo em torno de 85,8 milhões de toneladas, redução de 7,3% na produção em relação ao ano de 2017, conforme Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018).

O sucesso no estabelecimento de uma cultura depende do solo e do ambiente, que deve ser adequado à germinação da semente, emergência da plântula e seu desenvolvimento (DELMOND, 2009). Além disso, Mialhe (2012) reforça que o sucesso da cultura a ser instalada depende em grande parte, da qualidade do material de propagação, que este seja corretamente selecionado, apresentando alto poder germinativo, excelente vigor e não esteja contaminado por pragas e doenças.

2.3 Tratamento de sementes

O tratamento de sementes é usado principalmente com a finalidade de permitir a germinação de sementes infectadas, controlar patógenos transmitidos pela semente e proteger as sementes de fungos fitopatogênicos do solo (HENNING et al., 1991). Além de conferir proteção às sementes, o tratamento das mesmas oferece garantia adicional ao estabelecimento da lavoura a custos reduzidos (HENNING, 2005).

Alguns fungos patogênicos transmitidos pelas sementes são economicamente importantes, pois constituem fontes de inoculo para o desenvolvimento de doenças e podem interferir na emergência e estabelecimento das culturas. A prática recomendada para o controle desses patógenos é a aplicação de fungicidas sintéticos no tratamento de sementes, que se tornou indispensável para garantir a sanidade das mesmas. Porém, estudos recentes alertam para o uso excessivo de fungicidas, que podem ocasionar efeitos adversos na saúde humana e na

diversidade de microrganismos. Assim, a conscientização ecológica globalizada exige alimentos mais naturais, o que tem levado ao aprimoramento de medidas de controle integrado, através do uso de métodos alternativos para a utilização de sementes livres de resíduos tóxicos (SOUZA et al., 2003).

O processo de inoculação tradicional consiste em aplicar a bactéria nas sementes, desta forma, logo após a germinação a bactéria penetra na radícula, coloniza fixando nitrogênio atmosférico. A utilização da inoculação via sulco permite que o inoculante seja injetado por um sistema de aplicação acoplado à semeadora, no mesmo momento e operação da semeadura. Os tratamentos de sementes são distribuídos em camadas sobre a semente e o inoculante é distribuído no solo, diretamente no sulco de semeadura (LOBO; NOGUEIRA, 2014).

O avanço da tecnologia no tratamento de sementes, além de agroquímicos, o uso de bioprotetores têm crescido na agricultura nacional. Isso possibilita a utilização de muitos outros microrganismos como inoculantes, destacando os *Trichodermas* sp., *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp e *Bacillus* sp, que vem no intuito de reduzir a utilização de pesticidas sintéticos, os riscos aos operadores e os possíveis prejuízos ao meio ambiente (MERTZ et al., 2008).

2.4 Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP)

As rizobactérias são constituintes da microbiota rizosférica e podem ser classificadas como deletérias, benéficas ou neutras, conforme seus efeitos sobre o desenvolvimento das plantas. São capazes de estimular o desenvolvimento das plantas, com a produção de substâncias promotoras de crescimento (BAREA et al., 1983); e outros mecanismos, os quais ainda não estão totalmente esclarecidos

Existem relatos da promoção de crescimento por rizobactérias em várias culturas, tais como: soja (ARAÚJO; HUNGRIA, 1999), milho (BABALOLA et al., 2003; GHOLAMI et al., 2009), trigo (LUZ, 2001), feijão (SILVEIRA et al., 1995), arroz (BENEDUZI et al., 2008; RODRIGUES et al., 2008), tomate (FREITAS; PIZZINATTO, 1991; BERNABEU et al., 2015;) e alface (GOMES et al., 2003; CHAMANGASHT et al., 2012). 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, melhor absorção dos nutrientes, aumento tanto no peso seco quanto na altura dos cultivares dentre outros (RATZ, et al, 2017).

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 (GUERREIRO, 2008). A promoção do crescimento das plantas pela diminuição da incidência de doenças podem se dar pela inibição direta do crescimento do patógeno (FREITAS; PIZZINATTO, 1997; RAAIJMAKERS et al., 1997; OWEN; ZDOR, 2001) e pela indução de resistência sistêmica (FRIDLENDER et al., 1993; NANDAKUMAR et al., 2001), entre outras maneiras.

Bactérias do solo, especificamente bactérias rizosféricas, podem ser eficientes no controle de doenças causadas por fungos fitopatogênicos (OEDJIJONO; DRAGAR, 1993; ANDRADE et al., 1998).

2.4.1 Bactérias promotoras de crescimento

As bactérias promotoras de crescimento 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 (MARIANO et al, 2004).

Os primeiros trabalhos realizados com bactérias promotoras de crescimento no Brasil (STEIN, 1988; FREITAS, 1989) testaram *Pseudomonas fluorescens* para aumentar o crescimento de plântulas de tomateiro e cafeeiro em condições de casa de vegetação. Desde então, vários estudos têm avaliado o efeito benéfico da utilização dessas bactérias.

As bactérias promotoras de crescimento atuam promovendo diretamente o crescimento pela produção de ácido cianídrico, fitohormônios, enzimas como a ACC-deaminase, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação do nitrogênio e aumento da absorção pelas raízes, entre outros (CONNet al., 1997; LAZAROVITS; NOWAK, 1997).

A promoção de crescimento é considerada indireta quando a planta está sendo infectada por um patógeno e as bactérias promotoras de crescimento atuam como agentes de controle biológico através da produção de ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos, competição por espaço, Fe^{+3} e outros nutrientes, parasitismo, indução de resistência e proteção cruzada. As principais bactérias promotoras de crescimento são encontradas entre as *Pseudomonas* spp. não fluorescentes e fluorescentes; espécies de *Bacillus*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Acetobacter*, *Herbaspirilu*, *Agrobacterium radiobacter*, *Enterobacter cloacae* e *Burkholderia cepacia*, entre outras (MARIANO et al., 2004).

O efeito de rizobactérias, dentre as quais podemos destacar as do gênero *Bacillus* sobre o desenvolvimento de plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na emergência e

promoção de crescimento (SCHISLER, 2004), como também no antagonismo a fungos fitopatogênicos (ARAÚJO et al., 2005) e nematóides fitopatogênicos (NEIPP; BECKER, 1999).

O controle biológico no Brasil iniciou na década de 40 mas o biocontrole com bactérias é mais recente. Existem várias revisões sobre o assunto embora sem especificar agentes bacterianos de biocontrole (BETTIOL, 1996, 1997; LUZ, 1993b; MARIANO, 1993; MICHEREFF; MARIANO, 1993).

A ausência de especificidade e os riscos para a saúde humana e para o ambiente apresentados pelos defensivos agrícolas sintéticos acentuam a necessidade de ferramentas como o controle biológico na otimização dos sistemas de agricultura sustentável (BATISTA JÚNIOR, et al. 2002).

2.4.2 *Bacillus spp.*

De acordo com o banco de dados “List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature” existem atualmente 336 espécies e sete sub-espécies de microrganismos do gênero *Bacillus* com descrição válida de acordo com o manual de Bergey's, que sistematiza a classificação taxonômica de procaríotos (EUZÉBY, 2017). Este importante gênero de microrganismo, pertencente ao reino Bactéria, filo Firmicutes, classe Bacilli e ordem Bacillales, foi descrito primariamente por Cohn (1872), quem nomeou a espécie tipo como *Bacillus subtilis*. A etimologia que nomeia o gênero provém do latim *Bacillus*, uma palavra masculina que designa a morfologia da célula, remetendo à forma de bastão ou bastonete, normalmente arranjado em colônias (MADIGAN et al., 2016).

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

As bactérias do gênero *Bacillus* são habitantes naturais do solo. Essas bactérias formam endósporos e sobrevivem por longos períodos em nichos ecológicos específicos, além de apresentarem diferentes mecanismos de ação para contornar as defesas dos patógenos, tornando-

se grandes aliadas no controle biológico (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010). Bactérias do gênero *Bacillus* possuem grande potencial para serem usadas como agentes de controle biológico, pois mantêm sua viabilidade quando estocadas por longos períodos (PETRAS; CASIDA, 1985).

A promoção de crescimento ocasionada por *B. subtilis* consequência do aumento da fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, síntese de fitormônios e melhoria das condições do solo. Além dos benefícios indiretos pela supressão deste ambiente contra microrganismos maléficos (MANJULA; PODILE, 2005). Adicionalmente, a associação benéfica proporciona o aumento fisiológico de metabolitos que desencadeiam a sensibilidade do sistema radicular as condições externas, proporcionando a facilitação da percepção e absorção de nutrientes (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010). Isolados de *B. subtilis* também tem a capacidade de conduzir a regulação hormonal de plantas, como relatado por Tsavkelova et al. (2006) e Persello-Cartieaux et al. (2003), governando assim, o controle do crescimento radicular pela síntese de auxina, giberelina e citocinina.

Os mecanismos de ação das bactérias do gênero *Bacillus* ainda não foram totalmente elucidados, mas deve-se dar atenção aos componentes resultantes do metabolismo secundário para esclarecer se os benefícios da inoculação partem do microrganismo em si ou de seus metabólitos (ARAÚJO; HENNING; HUNGRIA, 2005), esta, talvez, é a resposta de porque o gênero *Bacillus* beneficia tantas culturas sob diferentes condições ambientais (KILIAN et al., 2000).

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

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

O gênero possui grande potencial biotecnológico e apesar de algumas espécies produzirem toxinas problemáticas a saúde humana e animal, muitas espécies de *Bacillus* podem ser empregadas na produção de antibióticos, enzimas e outros metabólitos de interesse para indústria farmacêutica, de alimentos e agrícola (BANAT et al., 2000; BALCAZAR; ROJAS-LUNA, 2007; SOROKULOVA et al., 2008; YOU et al., 2013).

Algumas espécies de *Bacillus*, como *B. firmus* (GENG et al., 2016), *B. cereus* (ZHANG, 2016) e *B. subtilis* (RAO et al., 2017) foram reportadas como altamente efetivas no

controle de nematoides parasitas de plantas. De forma geral, as endotoxinas produzidas por estes microrganismos interferem no ciclo reprodutivo dos nematoides, reduzindo a ovoposição e eclosão de juvenis. Assim, estas linhagens de *Bacillus* atuam como biocontroladores da população de nematoides e podem ser empregados no manejo de diversas culturas para reduzir os efeitos deletérios causados pelo parasita (GENG et al., 2016; ZHANG et al., 2016; CIANCIO et al., 2016; RAO et al., 2017).

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

2.5 Controle Biológico de Doenças

De acordo com Melo; Azevedo (1998) e Romeiro (2007), o controle biológico é uma técnica aplicada à redução da população de uma espécie-alvo que tem potencial de provocar danos econômicos, além de ser recomendado para reduzir as populações de insetos pragas, e combater plantas daninhas, patógenos de plantas, nematoides, entre outros.

A utilização de microrganismos para fins de controle biológico de doenças em plantas tem sido estudada no mundo inteiro, porém atualmente ainda está sendo pouco utilizada nos campos de produção, por questões como a falta de conhecimento, falta de informações e falta de resultados disponíveis podem ser os principais motivos pelo qual o controle biológico não está difundido nos campos (SCHÄFER, 2017).

O controle biológico em plantas tem como objetivo principal manter em níveis de equilíbrio as populações de organismos vivos presentes no solo, com o uso de inimigos naturais como forma de controle de moléstias ou doenças que trazem redução da produtividade das plantas (SCHÄFER, 2017).

O *Bacillus subtilis* tem mostrado grande importância como agente de biocontrole (LANNA FILHO et al., 2010) pois além de aumentar a biomassa da parte aérea, reduz a reprodução dos nematóides formadores de galhas em raiz de tomate, apresentando potencial para uso em programas de manejo integrado (ARAUJO e MARCHESI, 2009).

O potencial de exploração comercial de isolados de *B. subtilis* para formulação de bionematicidas é elevado, em razão de a bactéria produzir substâncias nematóxicas que alteram os exsudatos radiculares, aliada à habilidade de sobreviver no solo (VAZ; LOPES, 2011).

Segundo Souza; Debastiani (2015) há viabilidade na utilização de produtos biológicos à base de *Bacillus subtilis* para o controle do nematóide das galhas.

2.6 População Microbiana do solo

O solo é constituído por cinco componentes principais: água, ar, materiais inorgânicos e orgânicos e organismos vivos. As proporções de cada componente são variáveis, dependendo da origem do solo, das condições ambientais, do tipo de vegetação e do uso e manejo do solo (ALEXANDER, 1980).

O componente líquido e gasoso representam em média, cada um, 25% do volume total do solo. Os materiais inorgânicos contribuem com pouco menos do que a metade desse volume. A representatividade dos materiais orgânicos varia de 3 a 6% do volume total do solo, enquanto que os organismos vivos representados por pequenos animais (mesofauna) e pelos microrganismos (microbiota) contribuem com menos de 1% desse volume (DROZDOWICZ, 1991, SIQUEIRA et al., 1994).

A biomassa microbiana sendo integrante do compartimento da matéria orgânica do solo diretamente influenciado por fatores bióticos e abióticos, de tal forma que respostas a mudanças nos sistemas de uso e manejo do solo pode ser detectável muito mais rapidamente pela biomassa microbiana e seus metabólitos, principalmente devido ao tempo de ciclagem da matéria orgânica (GAMA-RODRIGUES et al., 2005).

A influência das plantas sobre a biomassa microbiana pode ser direta, como no caso do efeito seletivo da rizosfera (NEAL et al., 1973), ou indireta, por meio das fontes de C provenientes dos resíduos culturais, que podem ser mais ou menos biodisponíveis à decomposição enzimática pelos microrganismos (HERMAN et al., 1977; RAHN; LILLYWHITE, 2001). Por outro lado, muitas vezes o crescimento microbiano pode ser limitado pela escassez de nutrientes encontrados no solo, mas a adição de fontes de C ou N pode aumentar a biomassa e, com isso, imobilizá-los na sua constituição celular (GRAHAM et al., 2002).

A atividade da microbiota do solo pode ser avaliada de diversas formas, como pela medição da sua biomassa, da atividade de certas enzimas no solo, medidas da respiração basal (TÓTOLA; CHAER, 2002), entre outras. Assim como outros processos metabólicos, a respiração é dependente do estado fisiológico da célula microbiana e é influenciada por diversos fatores do solo como, a umidade, a temperatura, a estrutura, a disponibilidade de nutrientes, a textura, a relação C/N, a presença de resíduos orgânicos, entre outros. Altas taxas de respiração

podem indicar tanto um distúrbio ecológico como um alto nível de produtividade do ecossistema.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Escola da Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), *Campus* Luiz Meneghel (CLM), no município de Bandeirantes/PR. Foi conduzido ensaio na cultura de soja, na área com coordenadas geográficas S 23° 06' 24,7" e W 50° 21' 37,36" com altitude de 439 metros e ensaio na cultura de milho, na área com coordenadas geográficas S 23° 06' 40,77" e W 50° 21' 31,84" altitude de 441 metros ao nível do mar. O solo de classificação LATOSSOLO VERMELHO Eutrófico.

As bactérias utilizadas nesse trabalho pertencem fazem parte da biblioteca microrganismos do Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Estadual do Norte do Paraná. Estas foram isoladas de amostras de solo com aplicação de três anos de adubo biológico.

Das cepas isoladas foram selecionadas três (3) bactérias do gênero *Bacillus*, que foram denominados no trabalho de Isolados 1, 2 e 3.

A inoculação das bactérias foi realizada 10 minutos antes da semeadura, as sementes foram tratadas à sombra, num volume de calda de 800 mL/100 kg de sementes volume considerado suficiente para realizar uma boa cobertura das sementes. O tratamento foi realizado em sacos plásticos, a quantidade tratada foi de 2,00 quilogramas de sementes em cada tratamento, após as sementes terem sido tratadas, foram colocadas em sacos de papel e mantidos a sombra.

Em todos os tratamentos, inclusive a testemunha foi realizada a aplicação do Fungicida/Inseticida Standak Top na dose de 2,0 mL/100 kg de sementes.

A cultura da soja foi instalada no sistema de plantio direto dia 20/10/2016, na densidade de 13 sementes por metro, no espaçamento de 45 cm entrelinhas, utilizou-se a variedade BMX POTÊNCIA, com aração, gradagem onde as sementes foram semeadas com o auxílio de plantadeira modelo bicicleta. Juntamente com a semeadura efetuou-se uma adubação de base com 300 quilogramas por hectare do adubo formulado (NPK) 00-10-10.

A cultura de milho foi instalada no sistema de plantio direto no dia 22/01/2017, na densidade de três (3) sementes por metro linear, no espaçamento de 50 cm entrelinhas, utilizou-se a variedade KWS 9004, com aração, gradagem onde as sementes foram semeadas como o auxílio de plantadeira modelo bicicleta. Juntamente com a semeadura efetuou-se uma adubação de base com 250 quilogramas por hectare do adubo formulado (NPK) 10-18-18.

A colheita de soja foi realizada no dia 26/02/2017, colhendo-se a área quatro (4) metros lineares por parcela e também foi obtido o peso de 200 grãos. No momento da colheita os grãos estavam com 13% de umidade.

A colheita de milho foi realizada no dia 30/05/2017, colhendo-se a área 2m por parcela e também foi obtido o peso de 200 grãos. No momento da colheita os grãos estavam com 13% de umidade.

A coleta do solo para análises químicas e microbiológicas foi realizada logo após a colheitas dos ensaios sendo 7 sub-amostras coletadas por parcela onde foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos plásticos e transportadas em caixa térmica ao Laboratório de Microbiologia do Solo, da UENP/CLM. Nas avaliações químicas foram realizadas as análises de rotina para macronutrientes, matéria orgânica e pH. Nas análises microbiológicas foram avaliados Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), Respiração basal (RBS), Quociente metabólico (qCO_2) e Quociente microbiano ($qMIC$). Todas as coletas consistiram de amostras retiradas na profundidade de 0 – 10 cm, onde cada amostra foi constituída por 7 sub-amostras retiradas em pontos aleatórios dentro de cada parcela.

3.1. Delineamento Experimental

O delineamento experimental nas duas culturas (soja e milho) foi em bloco ao caso, com sete (7) tratamentos e quatro (4) repetições parcelas medindo 3,0 metros de largura e 6,0 metros de comprimento, perfazendo uma área de 18,0 m². Os tratamentos consistiram de testemunha, três espécies de bactérias do *Bacillus* spp. com duas doses diferentes de tratamento na semente (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamento de sementes com bactérias promotoras de crescimento de plantas na cultura da soja e do milho e a concentração utilizada.

TRAT.	Descrição	Concentração UFC mL ⁻¹	Dose mL/100 kg de sementes	
			Soja	Milho
T	Testemunha	-	-	-
B1-1	<i>Bacillus</i> spp Isolado 1	1x10 ⁹	10,0	80,0
B1-2	<i>Bacillus</i> spp Isolado 1	1x10 ⁹	20,0	100,0
B2-1	<i>Bacillus</i> spp Isolado 2	1x10 ⁹	10,0	80,0
B2-2	<i>Bacillus</i> spp Isolado 2	1x10 ⁹	20,0	100,0
B3-1	<i>Bacillus</i> spp Isolado 3	1x10 ⁹	10,0	80,0
B3-2	<i>Bacillus</i> spp Isolado 3	1x10 ⁹	20,0	100,0

3.2. Atributos Químicos e Microbiológicos do Solo

3.2.1. Determinação de pH e Nutrientes químicos

Após secar as amostras de solo ao ar, foram determinados o pH em CaCl_2 0,01 M, P, Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , e Al^{3+} . Os teores de Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} foram extraídos com KCl 1 N e determinados por absorção atômica (Ca^{2+} e Mg^{2+}) e titulação com NaOH 0,025 M (Al^{3+}); P e K^+ foram extraídos com o extrator Mehlich-1 e determinados por espectrofotometria de ionização de chama (K^+) e pelo método do azul de molibdênio (P), conforme Embrapa (2009).

3.2.2. Determinação de Matéria Orgânica

A matéria orgânica do solo pode ser definida, em sentido amplo, como organismos vivos, resíduos de plantas e animais pouco ou bem decompostos, que variam consideravelmente em estabilidade, susceptibilidade ou estágio de alteração. Nos solos tropicais, os atributos físico-químicos da matéria orgânica são essenciais para a manutenção da saúde dos ecossistemas dos quais fazem parte (QUIMICA, 2018).

A determinação obedece à equação:

$$\% MO = \left(\frac{P_s - P_m}{P_s} \right) \times 100$$

Onde:

%MO= matéria orgânica em porcentagem,

P_m = massa após ser submetida à combustão,

P_s = massa total ou inicial.

3.2.3. Determinação da Saturação por bases

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

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

Onde:

SB = soma de bases

CTC = capacidade de troca catiônica

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

A saturação por bases é um excelente indicativo das condições gerais de fertilidade do solo, sendo utilizada até como complemento na nomenclatura dos solos. Os solos podem ser divididos de acordo com a saturação por bases: solos eutróficos (férteis) = $V\% \geq 50\%$; solos distróficos (pouco férteis) = $V\% < 50\%$. Alguns solos distróficos podem ser muito pobres em Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^* e apresentar teor de alumínio trocável muito elevado, chegando a apresentar saturação em alumínio (m%) superior a 50% e nesse caso são classificados como solos álicos (muito pobres): $\text{Al trocável} \geq 3\text{mmol}_c$ e $\text{m}\% \geq 50\%$.

A maioria das culturas apresenta boa produtividade quando no solo é obtido valor V% entre 50 e 80% e valor de pH entre 6,0 e 6,5 (EMBRAPA, 2010).

3.2.4. Determinação do Carbono Orgânico Total (COT)

O valor do COT foi calculado com base no volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação dos brancos e da amostra. A partir da equação pode-se determinar a quantidade de carbono orgânico total da amostra em dag kg^{-1} . (1) em que, A - Volume calculado (mL); MSF - Molaridade do Sulfato Ferroso (mol L^{-1}), e P_a - Peso da amostra (mg) (MENDONÇA & MATOS, 2005).

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

Onde:

A - Volume calculado (mL);

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

P_a - Peso da amostra (mg).

3.2.5. Determinação da Biomassa de Carbono Microbiano (C_BMS)

O carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) foi determinado pelo método de fumigação-extração indireta (FEI) proposta por Silva et al. (2007a). As amostras de solo de cada um dos tratamentos foram separadas e pesadas (20 g) em duplicatas, sendo uma para fumigação e outra para não fumigação.

A fim de possibilitar o rompimento da membrana biológica dos microrganismos e a liberação do conteúdo celular ao meio, as amostras foram fumigadas em dessecador contendo béquers com 50 mL de clorofórmio livre de etanol (CHCl_3). O dessecador foi internamente

recoberto com papel toalha umedecido e tampado, sendo posteriormente submetido a vácuo por 4 minutos e incubado por 24 horas em ambiente escuro (VANCE et. al., 1987).

Após esse período de incubação, o dessecador foi aberto para possibilitar aeração e, em seguida, novamente submetido a vácuo por 4 minutos, sendo esse procedimento repetido de 5 a 6 vezes para a eliminação do clorofórmio.

A extração do CBMS foi efetuada com 50mL de solução de sulfato de potássio (K_2SO_4) 0,5 M sob agitação a 175 rpm por período de 50 minutos e filtrado em papel quantitativo para obtenção do extrato.

A determinação do teor de CBMS foi realizado por titulometria (WALKLEY; BLACK, 1934, modificado por TEDESCO et. al., 1995) foram transferidos 8 mL dos extratos filtrados para erlenmeyers de 250 mL, adicionando 2 mL de solução de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) 0,066 M e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) P.A.

Após resfriamento foram acrescentados 70mL de água deionizada, 5 mL de ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4) P.A. e 4 gotas de difenilamina ($(C_6H_5)_2NH$) 1% (m/v) em H_2SO_4 P.A., seguido de titulação com sulfato ferroso amoniacal [$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$] 0,033 M.

Por este método, ocorre a oxidação do C orgânico a CO_2 e H_2O por íon de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) 0,066 M em meio forte ácido. Com a reação descrita, é considerado que o dicromato consumido é equivalente ao C presente na amostra e o excedente titulado com solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal.

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

Equação:

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

onde:

C = carbono extraído do solo;

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

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

M = molaridade exata do $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$;

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

0.003 = miliequivalente do carbono

P_s (g) = massa de solo seco.

Por meio da subtração entre os teores de carbono do solo fumigado e não fumigado, pode-se obter o carbono da biomassa microbiana, sendo calculado conforme a equação 2:

Equação 2:

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

onde:

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

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

k_C = fator de correção.

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

3.2.6. *Determinação da Respiração Basal do Solo (RBS)*

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

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

Onde:

RBS – Carbono oriundo da respiração basal do solo;

V_b (mL) – Volume de ácido clorídrico gasto na titulação da solução controle (branco);

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

M – Molaridade exata do HCl;

P_s (g) – Massa de solo seco e

T – Tempo de incubação da amostra em horas.

3.2.7. *Determinação do Quociente Metabólico do solo (qCO_2)*

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

$$qCO_2(mg\ C-CO_2g^{-1}BMS-C\ h^{-1}) = \frac{RBS(mg\ C-CO_2Kg^{-1}solo\ h^{-1})}{BMS - C(mg\ C\ Kg^{-1}solo) \times 10^{-3}}$$

Onde:

qCO_2 – Quociente metabólico do solo;

RBS – Respiração basal do solo e

BMS-C – Carbono da biomassa microbiana do solo.

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

3.2.8. Determinação do Quociente Microbiano ($qMIC$)

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

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

3.2.9. Avaliação agronômica

Foram realizadas avaliações agronômicas, como, altura de 10 plantas escolhidas aleatoriamente medido da base da planta até o meristema apical, comprimento de raiz sendo medido da base da planta até o meristema radicular, peso fresco da parte aérea e raiz sendo amostradas 5 plantas por parcela, peso de grãos e produtividade em kg/ha.

3.3. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e aplicado o Teste de Tukey, para a comparação das médias ao nível de 5,0% de probabilidade, utilizando-se o

software SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas (CANTERI et al., 2001).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio 1 - Soja (*Glycinemax L*)

Nos parâmetros analisados na tabela 2 o pH reduziu significativamente para B2-1, B3-1 e B3-2 tal fato pode estar relacionado a degradação da matéria orgânica pelas bactérias que podem oxidar uma ampla faixa de compostos orgânicos e que em alguns casos são fermentativas

(STANIER, 1969). Para o P os tratamentos B1-2 e B2-1 obtiveram resultado significativo, para o K os tratamentos B3-1 e B3-2 apresentou um valor significativamente menor, onde as bactérias promotoras de crescimento podem ajudar a acelerar os processos de decomposição da matéria orgânica como no processo de mineralização. Onde também relatado por (PERCELLO - CARTINEAUX et al., 2003). Para os demais parâmetros avaliados não obteve significância.

Tabela 2. Análise química realizada pós-colheita de soja, das áreas com inoculação de bactérias *Bacillus spp.*

TRAT.	M.O g Kg ⁻¹	pH CaCl ₂	P mg dm ⁻³	K	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC	V %
				mol.dm ⁻³						
T	33,24 ^a	5,15 ^a	4,51 ^b	0,64 ^a	4,90 ^a	2,10 ^a	0,00 ^c	4,66 ^b	14,55 ^{ab}	68,03 ^a
B1-1	30,89 ^a	5,08 ^{ab}	6,15 ^b	0,70 ^a	6,68 ^a	2,90 ^a	0,00 ^c	4,65 ^b	14,93 ^a	68,82 ^a
B1-2	28,87 ^a	4,98 ^{abc}	8,30 ^a	0,56 ^{ab}	6,38 ^a	2,48 ^a	0,03 ^{bc}	5,10 ^{ab}	14,51 ^{ab}	64,82 ^{ab}
B2-1	28,54 ^a	4,88 ^{bc}	9,78 ^a	0,41 ^{bc}	6,00 ^a	3,18 ^a	0,18 ^a	5,28 ^{ab}	14,86 ^{ab}	64,50 ^{ab}
B2-2	27,53 ^a	5,03 ^{abc}	4,64 ^b	0,32 ^{cd}	5,80 ^a	2,85 ^a	0,03 ^{bc}	4,65 ^b	13,61 ^b	65,76 ^{ab}
B3-1	26,86 ^a	4,90 ^{bc}	6,01 ^b	0,20 ^d	5,93 ^a	3,43 ^a	0,18 ^a	4,95 ^{ab}	14,50 ^{ab}	65,85 ^{ab}
B3-2	28,20 ^a	4,80 ^c	5,12 ^b	0,21 ^d	4,20 ^a	2,50 ^a	0,15 ^{ab}	5,60 ^a	14,75 ^{ab}	61,98 ^b
CV (%)	12,21	2,06	11,25	17,71	10,51	14,01	78,55	7,72	3,90	4,00

Dados: M.O (Matéria Orgânica); P (Fósforo); K (Potássio); Ca (Cálcio); Mg (Magnésio); Al (Alumínio); H+Al (Acidez potencial); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); V% (Saturação de Base); T = Testemunha; B1-1 = *Bacillus*spp.1 dose 1; B1-2 = *Bacillus*spp.1 dose 2; B2-1 = *Bacillus*spp.2 dose 1; B2-2 = *Bacillus*spp.2 dose 2; B3-1 = *Bacillus*spp.3 dose 1; B3-2 = *Bacillus*spp.3 dose 2. Médias seguidas de mesma letras minúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nos parâmetros avaliados na Tabela 3, com relação ao C_BMS os tratamentos B1-1 e B2-1 não diferirão da testemunha, porém os demais tratamentos diferiram estatisticamente sendo destacado o tratamento B3-2 com o maior valor de mg C Kg⁻¹. Para o qMIC os tratamentos B1-1 e B2-1 não diferem da testemunha fato este pode estar relacionado a população microbiana e sua especificidade, já para a os tratamentos B2-1 e B2-2 observa uma diferença significativa, fato que pode estar relacionado ao aumento da população microbiana no aumento da dose, que também ocorre nos tratamentos B3-1 e B3-2. Para a respiração basal do solo RBS o tratamento

que apresentou valor significativamente menor o B3-1, coincidindo com menores índices de quociente metabólico do solo (qCO_2) o que indica equilíbrio na população microbiana ou seja um menor estresse fator esse que contribui para a nodulação, e maior rendimento da soja no campo (ARAÚJO; HENNING; HUNGRIA, 2005). Estimativas da biomassa microbiana têm sido usadas em estudos do fluxo de C e N, ciclagem de nutrientes e produtividade das plantas em diferentes ecossistemas terrestres, possibilitando ainda a associação da quantidade de nutrientes imobilizados e a atividade da biomassa microbiana com a fertilidade e o potencial de produtividade do solo (GAMA-RODRIGUES; GAMA RODRIGUES, 2008).

Tabela 3. Análise dos atributos microbiológicos do solo na cultura da soja inoculadas com bactérias do gênero *Bacillus* spp. em duas doses.

TRAT	COT	C_BMS	qMIC	RBS	qCO ₂
	g Kg ⁻¹	mg C kg ⁻¹	(%)	mgC-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	RBS C_BMS ⁻¹
T	19,28 a	73,62 e	0,38 e	0,46 abc	6,33 ab
B1-1	17,92 a	86,89 cde	0,49 de	0,71 a	8,23 a
B1-2	16,75 a	117,85 bcd	0,70 cd	0,53 ab	4,62 bc
B2-1	16,55 a	83,83 de	0,51 de	0,71 a	8,53 a
B2-2	15,97 a	154,66 ab	0,97 ab	0,36 bc	2,29 cd
B3-1	15,58 a	125,96 bc	0,81 bc	0,26 c	2,14 d
B3-2	16,36 a	170,98 a	1,08 a	0,37 bc	2,23 cd
C.V. (%)	11,75	14,73	15,32	23,69	21,22

Dados: (COT) = Carbono Orgânico total; (C_BMS) = Biomassa de Carbono Microbiano; (qMIC) = Quociente Microbiano; (RBS) = Respiração Basal do Solo; (qCO₂) = Quociente Metabólico do Solo. T = Testemunha; B1-1 = *Bacillus* spp.1 dose 1; B1-2 = *Bacillus* spp.1 dose 2; B2-1 = *Bacillus* spp.2 dose 1; B2-2 = *Bacillus* spp.2 dose 2; B3-1 = *Bacillus* spp.3 dose 1; B3-2 = *Bacillus* spp.3 dose 2. Médias seguidas de mesma letras minúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nos parâmetros avaliados na Tabela 4, somente o fator produtividade obteve resultado significativo e observou que tratamento B1-2 obteve uma queda de rendimento em comparação com os demais, fator que pode estar relacionado ao fato de que bactérias em habitats naturais colonizam o interior e exterior de órgãos de plantas e podem ser benéficas, neutras ou prejudiciais ao seu crescimento (MARIANO, et al, 2004).

Tabela 4. Parâmetros de desenvolvimento da soja (parte aérea, raiz e produtividade), com inoculação de bactérias *Bacillus* spp. em duas doses.

TRAT.	Parte Aérea		Raiz		Produtividade	
	Altura(cm)	Massa Seca(g)	Comprimento(cm)	MassaSeca(g)	Peso 1000grãos (g)	Kg ha ⁻¹
T	28,10 a	4,22 a	20,15 ab	5,18 ab	127,50 a	3.665,4 ab
B1-1	27,88 a	3,57 a	19,15 b	4,88 b	132,14 a	3.955,8 a
B1-2	28,45 a	4,35 a	21,66 ab	4,89 b	128,57 a	2.490,0 c
B2-1	28,13 a	3,96 a	20,70 ab	5,31 ab	128,57 a	3.096,0 abc
B2-2	29,00 a	4,42 a	23,60 ab	5,30 ab	134,28 a	2.780,4 bc
B3-1	28,80 a	4,30 a	25,15 a	5,49 a	127,14 a	3.522,6 ab
B3-2	28,23 a	4,12 a	25,05 a	5,23 ab	131,93 a	4.113,6 a
CV (%)	4,07	4,79	8,90	6,95	4,23	12,08

Dados: T = Testemunha; B1-1 = *Bacillus*spp.1 dose 1; B1-2 = *Bacillus*spp.1 dose 2; B2-1 = *Bacillus*spp.2 dose 1; B2-2 = *Bacillus*spp.2 dose 2; B3-1 = *Bacillus*spp.3 dose 1; B3-2 = *Bacillus*spp.3 dose 2. Médias seguidas de mesma letras minúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Entre os mais variados meios de ação para promover o crescimento de plantas estão à produção de fitormônios de crescimento, como auxinas e citoninas (ASGHAR et al., 2002).

4.2 Ensaio 2 – Milho (*Zea mays*)

Nos parâmetros avaliados na Tabela 5 referentes a análise química do solo onde foi cultivado o ensaio de milho, apenas para as análises de P e K os resultados se mostraram significativos para todos os tratamentos comparando com a testemunha, porém não se diferem entre si quando existe a inoculação das bactérias, esse fato pode estar relacionado ao fato de que as bactérias podem estar auxiliando na mineralização desses elementos. (LAZAROVITS; NOWAK, 1997) relata que as bactérias promotoras de crescimento promovem a mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação do nitrogênio e aumenta absorção pelas raízes.

Tabela 5. Análise química realizada pós-colheita de milho, das áreas com inoculação de bactérias *Bacillus* spp.

TRAT	M.O g Kg ⁻¹	pH CaCl ₂	P mg dm ⁻³	K	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC	V
							mol.dm ⁻³			%
T	21,82 ^a	5,03 ^a	31,35 ^a	0,74 ^a	5,70 ^a	3,33 ^a	0,05 ^a	7,20 ^a	16,97 ^a	58,22 ^a
B1-1	24,51 ^a	4,93 ^a	16,02 ^b	0,48 ^b	6,48 ^a	2,78 ^a	0,05 ^a	6,98 ^a	16,71 ^a	58,32 ^a
B1-2	23,50 ^a	5,00 ^a	16,42 ^b	0,47 ^b	6,05 ^a	3,55 ^a	0,08 ^a	6,38 ^a	16,45 ^a	61,36 ^a
B2-1	24,51 ^a	5,03 ^a	22,44 ^b	0,40 ^b	6,40 ^a	3,28 ^a	0,03 ^a	6,30 ^a	16,37 ^a	61,52 ^a
B2-2	24,17 ^a	4,95 ^a	16,11 ^b	0,41 ^b	6,55 ^a	2,33 ^a	0,08 ^a	5,69 ^a	14,97 ^a	61,88 ^a
B3-1	21,49 ^a	4,83 ^a	9,99 ^b	0,38 ^b	5,15 ^a	3,38 ^a	0,13 ^a	6,50 ^a	15,40 ^a	58,20 ^a
B3-2	23,17 ^a	5,00 ^a	23,91 ^b	0,39 ^b	5,63 ^a	3,18 ^a	0,08 ^a	5,95 ^a	15,14 ^a	60,28 ^a
CV(%)	18,73	5,20	14,35	16,41	22,01	21,20	142,9	21,67	5,82	12,49

Dados: M.O (Matéria Orgânica); P (Fósforo); K (Potássio); Ca (Cálcio); Mg (Magnésio); Al (Alumínio); H+Al (Acidez potencial); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); V% (Saturação de Base); T = Testemunha; B1-1 = *Bacillus*spp.1 dose 1; B1-2 = *Bacillus*spp.1 dose 2; B2-1 = *Bacillus*spp.2 dose 1; B2-2 = *Bacillus*spp.2 dose 2; B3-1 = *Bacillus*spp.3 dose 1; B3-2 = *Bacillus*spp.3 dose 2. Médias seguidas de mesma letras minúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nos atributos microbiológicos do solo, parâmetros avaliados na Tabela 6, para COT os resultados não foram significativos, porém para o C_BMS os tratamentos B1-2 e B2-1 foram significativos com relação a testemunha e com os demais tratamentos, dando destaque para o tratamento B1-2 que obteve um valor maior sendo de 231,86 mg C kg⁻¹, o que revela um aumento na população microbiana e conseqüentemente foi o tratamento que obteve melhor índice no quociente microbiano ocasionando uma melhor degradação da matéria orgânica. A quantidade e composição da biomassa microbiana podem ser influenciadas por diversos fatores, entre os quais o sistema de cultivo, a rotação de culturas e a textura do solo (VENZKE FILHO et al., 2008).

Tabela 6. Análise dos atributos microbiológicos do solo na cultura do milho, sementes inoculadas com bactérias do gênero *Bacillus* spp na dose 1 (comercial) e 2 (dobro da dose).

TRAT	COT	C_BMS	qMIC	RBS	qCO ₂
	g Kg ⁻¹	mg C kg ⁻¹	(%)	mgC-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	RBS C_BMS ⁻¹
T	12,66 a	98,32 c	0,78 c	0,26 bc	2,66 b
B1-1	14,22 a	93,35 c	0,66 c	0,14 c	1,49 b
B1-2	13,63 a	231,86 a	1,76 a	0,34 ab	1,48 b
B2-1	14,22 a	175,87 b	1,25 b	0,40 ab	2,26 b
B2-2	14,02 a	91,77 c	0,67 c	0,47 a	5,17 a
B3-1	12,46 a	72,07 c	0,61 c	0,44 ab	6,02 a
B3-2	13,44 a	94,24 c	0,70 c	0,26 bc	2,72 b
C.V. (%)	14,16	11,04	17,46	4,93	27,19

Dados: (COT) = Carbono Orgânico total; (C_BMS) = Biomassa de Carbono Microbiano; (qMIC) = Quociente Microbiano; (RBS) = Respiração Basal do Solo; (qCO₂)= Quociente Metabólico do Solo.

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Nos parâmetros avaliados na Tabela 7, para altura de plantas somente o tratamento B2-1 não difere da testemunha, porém todos os demais tratamentos diferem, obtendo assim uma altura maior das plantas nos tratamentos, Moreira (2014), destaca a especificidade da associação entre a bactéria *Bacillus* spp. e a planta, sendo consenso que o genótipo da planta é ator determinante para a obtenção dos benefícios oriundos da inoculação. No fator massa fresca todos os tratamentos obtiveram resultado significativo com relação a testemunha, no comprimento de raiz e peso de 200 grãos, não obteve resposta significativa, nos dados referentes a massa fresca somente o tratamento B1-1 não diferiu da testemunha e dando destaque para o tratamento B3-1 que obteve o melhor resultado sobre os demais e para a produtividade somente o tratamento B2-1 obteve uma diferença significativa sobre os demais. Dotto et al. (2010) e Alves (2007) relataram resultados contrastantes de produtividade de diferentes híbridos de milho com aplicação bacteriana.

Tabela 7. Parâmetros de desenvolvimento do milho (parte aérea, raiz e produtividade), com inoculação de bactérias *Bacillus* spp. em duas doses.

TRAT.	Parte Aérea		Raiz		Produtividade	
	Altura(cm)	Massa Fresca(g)	Comprimento(cm)	Massa Fresca(g)	Peso 200grãos (g)	Sacas/ ha
T	69,25 b	85,29 b	25,55 a	28,50 c	68,44 a	83,74bc
B1-1	81,00 a	97,53 a	27,30 a	32,11 bc	70,02 a	80,92 c
B1-2	85,85 a	103,66 a	20,10 a	33,74 ab	67,04 a	84,03bc
B2-1	78,75 ab	103,11 a	23,55 a	35,27 ab	69,42 a	100,43 a
B2-2	81,35 a	102,36 a	22,55 a	34,17 ab	67,27 a	81,41 c
B3-1	83,05 a	101,09 a	23,10 a	35,96 a	68,40 a	78,45 c
B3-2	82,10 a	105,24 a	26,35 a	35,37 ab	68,89 a	85,27 b
CV (%)	6,35	4,09	26,95	4,50	3,50	3,76

Dados: T = Testemunha; B1-1 = *Bacillus*spp.1 dose 1; B1-2 = *Bacillus*spp.1 dose 2; B2-1 = *Bacillus*spp.2 dose 1; B2-2 = *Bacillus*spp.2 dose 2; B3-1 = *Bacillus*spp.3 dose 1; B3-2 = *Bacillus*spp.3 dose 2. Médias seguidas de mesma letras minúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. CONCLUSÕES

A inoculação de *Bacillus* spp. demonstrou resultados distintos nas cultura de soja e milho. Na soja a aplicação de *Bacillus* spp. dos três isolados apresentou melhor resultado nos atributos microbiológicos na dose maior, ou seja, no dobro da dose comercial. Nos demais atributos não houve grandes alterações, fato importante, pois demonstra que a inoculação de bactérias não demonstrou prejuízo na produção da cultura.

No milho, a inoculação de *Bacillus* spp. resultou em aumento da parte aérea e raiz, no entanto tal aumento não se concretizou em produtividade. No entanto o *Bacillus* isolado 2 na dose comercial, pode ter grande importância no aumento da população microbiana do solo, e conseqüentemente influenciando diretamente na produtividade do milho.

Há necessidade de mais ensaios com as bactérias (*Bacillus* spp.) tais como protetores de células que mantenham viáveis no período de germinação da semente e outros variáveis ambientais que podem interferir na sobrevivência das bactérias, no entanto, há grande potencial para desenvolvimento de inoculante comercial.

6. REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, M. **Introducción a la Microbiología del suelo**. México. D.F., Libros Y Editoriales. 491 p, 1980.
- ALVES, T. D. S.; CAMPOS, L. L.; ELIAS NETO, N.; MATSUOKA, M.; LOUREIRO, M. F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, 2011.
- ALVES, G. **Efeito de inoculação de bactérias Diazotróficas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Bulkholderia* em genótipos de milho**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ, 2007.
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biol. Biochem.**, 25:393-395, 1993.
- ANDRADE, G.; DE LEIJ, F. A. A. M.; LYNCH, J. M. Plant mediated interactions between *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium leguminosarum* and arbuscular mycorrhizae on pea. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 26, p. 311-316, 1998.
- ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/B. *elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 34, 1633-1643, 1999.
- ARAÚJO, F.F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v.21, p.1639-1645, 2005.
- ARAÚJO, 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.
- ARAÚJO, F. F. de; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do Tomateiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.5, p.1558-1561, ago. 2009.
- ASGHAR, H. N. et al. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biol. Fert. Soils**, v. 35, p. 231-237, 2002.
- BABALOLA, O. O., OSIR, E. O., SANNI, A., ODHAIMBO, G. D.; BULIMO, W. D. Amplification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic ACC) deaminase from plant growth promoting rhizobacteria in Striga-infested soils. **African Journal of Biotechnology**, 2, 157-160, 2003.
- BALCAZAR, J. L.; ROJAS-LUNA, T. Inhibitory activity of probiotic *Bacillus subtilis* UTM 126 against *Vibrio* species confers protection against vibriosis in juvenile shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Current microbiology**, New York, v. 55, n. 5, p. 409-412, Aug. 2007.

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

BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. *Mycorrhizas* and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. **Advances in Agronomy**, v. 36, p. 1-54, 1983.

BATISTA JÚNIOR, C.B.; ALBINO, U.B.; MARTINES, A.M.; SARIDAKIS, D.P.; MATSUMOTO, L.S.; AVANZI, M.A.; ANDRADE, G. Efeito fungistático de *Bacillus thuringiensis* e de outras bactérias sobre alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Volume 37, nº8. Brasília, agosto de 2002.

BENEDUZI, A., PERES, D., VARGAS, L. K., BODANESE-ZANETTINI, M. H.; PASSAGLIA, L. M. P. Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen-fixing Bacilli isolated from rice fields in South Brazil. **Applied Soil Ecology**, 39, 311-320, 2008.

BERNABEU, P. R., PISTORIO, M., TORRES-TEJERIZO, G., ESTRADA-DE LOS SANTOS, P., GALAR, M. L., BOIARDI, J. L.; LUNA, M. F. Colonization and plant growth promotion of tomato by *Burkholderia tropica*. **Scientia Horticulturae**, 191, 113-120, 2015.

BETTIOL, W. Biocontrol na fitosfera: problemas e perspectivas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, 5:59-97. 1997.

BETTIOL, W. Biological control of plant pathogens in Brazil: Application and current research. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 12: 505-510. 1996.

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

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

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

CHAMANGASHT, S., ARDAKANI, M. R., KHAVAZI, K., ABBASZADEH, B. & MAFAKHERI, S. Improving lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth and yield by the application of biofertilizers. **Annals of Biological Research**, 3, 1876-1879, 2012.

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

CONAB - **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. 2018. V. 5. Safra 2017/18.N. 10 - Décimo levantamento | JULHO 2018.

CONN, K.L., NOWAK, J.; LAZAROVITS, G.A gnotobiotic bioassay for studying interactions between potatoes and plant growth-promoting rhizobacteria. **Canadian Journal of Microbiology** 43: 801-808. 1997.

DAGIOS, R.F. **Avaliação da sobreposição na semeadura de milho (*Zeamays*) utilizando uma semeadora de precisão**. Dissertação apresentada a Universidade Federal de Santa Maria. Programa de Pós-Graduação em Agricultura de Precisão. Santa Maria - RS, 2018.

DEAN, D. H. Biochemical genetics of the bacterial insect-control agent *Bacillus thuringiensis*: basic principles and prospect for genetic engineering. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, Andover, v. 2, p. 341-363, 1984.

DELMOND, J.G. **Desempenho de uma semeadora-adubadora de plantio direto na cultura do feijão**, 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis – GO, 2009.

DOTTO, A.P.; LANA, M.C.; FRANDOLOSO, J. F. Produtividade milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, 5, 2010.

DROZDOWICZ, A. G. **Microbiologia Ambiental**. In: ROITMAN, I.; TRAVASSOS, I.R.; AZEVEDO, J.L., ed. Tratado de microbiologia. Rio de Janeiro: Editora Manole, v.2. p. 1-102, 1991.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Soja em números (safra 2017/2018)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>, 2018. Acesso em 17 de julho de 2018.

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

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO_2)**. Comunicado Técnico. ISSN 1517-8862, agosto de 2007. Seropédica, RJ.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO no Brasil, 2017**. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/1043666/>. Acesso em 03 de julho de 2018.

FEIGL, B.J.; SPARLING, G.P.; ROSS, D.J.; CERRI, C.C. Soil microbial biomass in Amazonian soils: Evaluation of methods and estimates of pool sizes. **Soil Biol. Biochem.**, 27:1467-1472, 1995.

FENNER, E.L. **Biocontrole da ferrugem asiática e da podridão vermelha da raiz, em soja, utilizando diferentes tratamentos biológicos nas sementes**. Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus de Cerro Largo – RS, 2017.

FREITAS, S. S.; PIZZINATTO, M. A. Interações de *Pseudomonas* sp. e *Fusarium oxysporum* 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.; 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 Biol. Biochem.**, v. 25, p. 1211-1221, 1993.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; BARROS, N.F.; GAMARODRIGUES, A.C.; SANTOS, G.A. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. **R. Bras. Ci. Solo**, 9:893-901, 2005.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; BARROS, N.F.; VIANA, A.P.; SANTOS, G.A. Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do solo, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por plantações de eucalipto, em diferentes sítios da região Sudeste do Brasil. **R. Bras. Ci. Solo**, 32:1489-1499, 2008.

GHOLAMI, A., SHAHSAVANI, S.; NEZARAT, S. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, 49, 19-24, 2009.

GRAHAM, M.H.; HAYNES, R.J.; MEYER, J.H. Soil organic matter content and quality: effects of fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. **Soil Biol. Biochem.**, 34:93-102, 2002.

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.

GUERREIRO, R.T. **Seleção de *Bacillus* spp. promotores de crescimento de milho.** Dissertação apresentada a Universidade do Oeste Paulista – UNIOESTE. Presidente Prudente – SP, 2008.

HENNING, A.A. (*Glycine max* L. Merrill). Informativo ABRATES. 19, 9-12, 2009.

HENNING, A.A.; KRZYZANOWSKI, F.C. J; FRANCA NETO, J.B.J; YORINORI, J.T. J. **Tratamento de sementes de soja com fungicida.** Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1991. 4 p.

HENNING, A.A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais.** Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 2005. 52 p.

HERMAN, W.A.; MCGILL, W.B.; DORMAAR, J.F. Effects of initial chemical composition on decomposition of roots of three grass species. **J. SoilSci.**, 57:205-215, 1977.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE, **Estatística da Produção Agrícola**, janeiro, 2018. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/ibge/arquivos/eacb7bd3a7d0941cfb93ace38dc13f86.pdf>. Acesso em 04 de julho de 2018.

ISERMEYER, H. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. **Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.**, 56:26-38, 1952.

JENKINSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil - IV. The decomposition of fumigated organisms in soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford. 8:203- 8, 1976.

JENKINSON, D.S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J.N. eds. **Soil Biochemistry**, New York, Marcel Dekker, 1981, 1976.

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

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

LAZAROVITZ, G.; NOWAK, J. *Rhizobacterium* for improvement of plant growth and establishment. **Hortscience** 32:188-192. 1997.

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 agrícola**, v.54, p.89-96, 1997.

LI, B.; XIE, G.; SOAD, A.; COOSEMANS, J. Suppression of *Meloidogyne javanica* by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. **Journal-zhejiang University Science**, v. 6, n. 6, p. 496, 2005.

LOBO, R. F. D.; NOGUEIRA, L. C. A. **Aplicação de inoculante via sulco na cultura de soja**. 4ª edição, maio 2014. Disponível em: <<http://fait.revista.inf.br/site/c/agronomia.html>>. Acesso em 10 julho 2018.

LUZ, W.C. Microbiolização de sementes para o controle de doenças das plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas** 1:35-77. 1993b.

LUZ, W. C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, 26, 597-600, 2001.

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

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja/saiba-mais>. Acesso em 03 de julho de 2018.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Brasil Projeções do Agronegócio 2011/12 a 2021/2022**. Brasília, 2012. Disponível em: www.agricultura.gov.br. Acesso em 05 de julho de 2018.

MARIANO, R.L.R. Métodos de seleção in vitro para o controle microbiológico de patógenos de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas** 1:369-409. 1993.

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

MASCIARELLI, O.; LLANES, A.; LUNA, V. A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. **Microbiological Research**, 169, 609-615, 2014.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA, 1998. v.1: 262p.

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

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p.121-127, 2008.

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

MIALHE, L.G. **Máquinas agrícolas para plantio**. Campinas: Millennium, 2012, 623 f.

MICHEREFF, S.J. & MARIANO, R.L.R. **Controle Biológico de doenças de plantas**. Periódicos existentes no Brasil e onde encontrá-los - Guia Básico. Recife. Imprensa Universitária-UFRPE. 1993.

MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.

MOREIRA, J.C.F. **Milho safra submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas e doses de nitrogênio**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Mato Grosso, Rondonópolis – MT, Brasil, 2014

MOSCARDI, F. Uso de *Baculovirus Bacillusthuringiensis* no controle de lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*. **Soja orgânica**, 2003.15 p.

NANDAKUMAR, R. et al. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biol. Biochem**, v. 33, p. 603-612, 2001.

NEAL, J.L.; LARSON, R.I.; ATKINSON, T.G. Changes in rhizosphere populations of selected physiological groups of bacteria related to substitution of specific pairs of chromosomes in spring wheat. **Plant Soil**, 39:209-212, 1973.

NEIPP, P.W., BECKER, J.O. Evaluation of biocontrol activity of rhizobacteria from *Beta vulgaris vulgaris* against *Heterodera schachtii*. **Journal of Nematology**, v.31, n.1, p.54-61, 1999.

OEDJIJONO, M. A. L.; DRAGAR, C. Isolation of bacteria antagonistic to a range of plant pathogenic fungi. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 247-250, 1993.

ONU- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **População mundial atingiu 7,6 bilhões de habitantes, 2017.** Disponível em: <http://www.unmultimedia.org/radio/portuguese/2017/06/populacao-mundial-atingiu-76-bilhoes-de-habitantes/#.WgclvWhSxPY>. Acesso em 04 de julho de 2018.

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 Biol. Biochem.**, v. 33, n. 801-809, 2001.

PARKINSON, D., GRAY, T. R. G., WILLIAMS, S. T. **Methods for studying the ecology of soil microorganisms.** In: DIONÍSIO J. A Tese de Doutorado, 1985. Oxford, Blackwell Scientific Publications. 1971, 116p.

PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. **Plant Cell and Environment**, v.26, p.186–199, 2003

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

QUIMICA PARA ENGENHARIA AMBIENTAL. Aula Experimental nº3. **Caracterização de Solos de Várias Origens.** Disponível em: <http://www.iqsc.usp.br/iqsc/servidores/docentes/pessoal/mrezende/arquivos/aula03.pdf>. Acesso em 11 de julho de 2018.

RAAIJMAKERS, J. M.; WELLER, D. M.; THOMASHOW, L. S. Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 63, p. 881-887, 1997.

RAHN, C.R.; LILLYWHITE, R.D. A study of the quality factors affecting the short – term decomposition of field vegetable residues. **J. Sci. Food Agric.**, 82:19-26, 2001.

RATZ, R.J.; PALÁCIO, S.M.; ESPINOZA-QUIÑONES, F.R.; VICENTINO, R.C.; MICHELIM, H.J.; RICHTER, L.M. Potencial biotecnológico de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de milho e soja. **Engevista**, v.19, n.4, p.890-905, outubro de 2017.

RODRIGUES, E. P., RODRIGUES, L. S., DE OLIVEIRA, A L. M., BALDANI, V. L. D., TEIXEIRA, K. R. S., URQUIAGA, S.; REIS, V. M. *Azospirillum amazonense* inoculation: effects on growth, yield and N₂ fixation of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant and Soil**, 302, 249-261, 2008.

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

ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de doenças de plantas**. 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2007. 269p.

SCHÄFER, E.L. **Avaliação de Microrganismos promotores de crescimento e proteção na cultura da soja (*Glycine max*)**. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Departamento de Estudos Agrários – UNIJUÍ. Ijuí, RS, 2017.

SCHISLER, D.A. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. **Phytopathology**, Saint Paul, v.94, p.1267-1271, 2004.

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

SHARMA, R.D., VIVALDI, L.J.
Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pausteria penetrans*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.34, n.11, p.2065-2069, 1999.

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

SILVA, A.P; BABUJIA, L.C.; MATSUMOTO, L.S.; GUIMARÃES, M.F.; HUNGRIA, M. Bacterial diversity under different tillage and crop rotation systems in anoxisol of Southern Brazil. **The Open Agri. J.**, 7: 40 - 47, 2013.

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

SILVEIRA, A. P. D., FREITAS, S. S., SILVA, L. R. C., LOMBARDI, M. L. C. O. & CARDOSO, E. J. B. N. 1995. Interações de micorrizas arbusculares e rizobactérias promotoras do crescimento em plantas de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 19, 205-211.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. de S.; GRISI, B.; HUNGRIA, M. ARAÚJO, R. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. EMBRAPA, Brasília, 142p, 1994.

SOROKULOVA, I. B.; PINCHUK, I. V.; DENAYROLLES, M.; OSIPOVA, I. G.; HUANG J. M.; CUTTING, S. M.; URDACI, M. C. The safety of two *Bacillus* probiotic strains for human use. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 53, n.4, p. 954-963, Apr. 2008.

SOUZA, A.A.; BRUNO, R.L.A.; ARAÚJO, E.; BRUNO, G. B. Microflora e qualidade fisiológica de sementes do algodoeiro tratadas com fungicidas químicos e extrato de aroeira. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, p.56-64, 2003.

SOUZA, B.L.P.; DEBASTIANI, N. R.
Biological products can reduce the nematode gall on rainfed rice cultivation? **J. Bioen. Food Science**, London, v.2, n.1: p.32-38, 2015.

SPARLING, G.P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Austr. J. Soil Res.**, 30:195-207, 1992.

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

STEFAN, M.; DUNCA, S.; OLTEANU, Z.; OPRICA, L.; UNGUREANU, E.; HRITCU, L.; COJOCARU, D. Soybean (*Glycine max* [L] Merr.) inoculation with *Bacillus pumilus* Rs3 promotes plant growth and increases seed protein yield: relevance for environmentally-friendly agricultural applications. **Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences**, 5, 131-138, 2010.

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.

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

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

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. **Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo.** In: ALVAREZ V., V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V. & COSTA, L.M., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.195-276.

TSAVKELOVA, E.A.; KLIMOVA, S. Y.; CHERDYNTSEVA, T. A.; NETRUSOV, A. I. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.42, p.117-126, 2006.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biol. Biochem.**, 19:703-707, 1987.

VAZ, M.V; LOPES, E.A. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* com *Bacillus subtilis*. **PERQUIRERE Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão**, Patos de Minas: UNIPAM, n.8, vol. 1, p. 203-212, jul. 2011.

VENZKE FILHO, S.P.; FEIGL, B.J.; PICCOLO, M.C.; SIQUEIRA NETO, M.; CERRI, C.C. Biomassa microbiana do solo em sistema de plantio direto na região de Campos Gerais – Tibagi, PR. **R. Bras. Ci. Solo**, 32:599- 610, 2008.

YOU, Z. Q.; LI, J.; QIN, S.; TIAN, X. P.; WANG, F. Z.; ZHANG, S.; LI W.J. *Bacillus abyssalis* sp. nov., isolated from a sediment of the South China Sea. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 103, n. 5, May. 2013.

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

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