



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS

EFEITO DA INOCULAÇÃO DA LEVEDURA *Torulaspota globosa* E DA
BACTÉRIA *Bacillus subtilis* NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE
MILHO

LIZ EVELYN GRIMALDI GÓMEZ

Araras
2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**EFEITO DA INOCULAÇÃO DA LEVEDURA *Torulaspota globosa* E DA
BACTÉRIA *Bacillus subtilis* NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE
MILHO**

LIZ EVELYN GRIMALDI GÓMEZ

ORIENTADOR: PROF. DR^a. MARCIA MARIA ROSA MAGRI

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Produção
Vegetal e Bioprocessos Associados
como requisito parcial à obtenção do
título de MESTRE EM PRODUÇÃO
VEGETAL E BIOPROCESSOS
ASSOCIADOS

Araras

2024

Grimaldi Gómez, Liz Evelyn

Efeito da inoculação da levedura *Torulaspora globosa* e da bactéria *Bacillus subtilis* no desenvolvimento inicial de plantas de milho. / Liz Evelyn Grimaldi Gómez -- 2024. 60f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, Araras

Orientador (a): Marcia Maria Rosa Magri

Banca Examinadora: Eduardo Dal ´Ava Mariano,
Guillermo Enciso Maldonado

Bibliografia

1. 1. Microrganismos promotores de crescimento vegetal
2. Inoculação 3. Milho . I. Grimaldi Gómez, Liz Evelyn. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Helena Sachi do Amaral - CRB/8
7083



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Liz Evelyn Grimaldi Gómez, realizada em 28/06/2024.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Marcia Maria Rosa Magri (UFSCar)

Prof. Dr. Eduardo Dal Ava Mariano (UFSCar)

Prof. Dr. Guillermo Andrés Enciso Maldonado (UC)

Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ser meu guia ao longo da minha vida.

Quero dedicar uma gratidão especial ao meu pai, Alfredo Grimaldi, à minha mãe, Basilia Gómez, aos meus irmãos, Antonio e Amilcar, e às minhas sobrinhas, Ariadne e Alessia. Seu amor e confiança em mim foram fundamentais para o meu sucesso. Vocês têm sido minha fonte de inspiração e motivação, impulsionando-me a perseguir meus sonhos.

Gostaria de expressar minha sincera gratidão à minha orientadora, Professora Dra. Márcia Maria Rosa Magri, não apenas como minha professora e orientadora, mas também como uma inspiração diária tanto na área acadêmica quanto na vida pessoal, e pela sua infinita paciência ao compartilhar seu conhecimento.

À Profa. Sandra Regina Ceccato Antonini por seus ensinamentos. Além disso, agradeço o apoio profissional e emocional que recebi durante todo o período em que estive no LAMAM.

À Universidade Federal de São Carlos - UFSCar e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados, aos docentes do programa e à UFSCar-CCA por todos os aprendizados e estrutura.

Gratidão ao Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), onde pude desenvolver meu projeto, e a todos os colegas que compartilharam essa jornada acadêmica comigo.

Agradeço a todos que de certa forma colaboraram para que esta dissertação fosse concluída (Em colaboração)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

À minha amiga Claudia Bogado, que desempenhou um papel fundamental ao longo desses dois anos. Sua amizade e apoio foram um alento nos momentos difíceis e uma alegria nos momentos de celebração. Também agradeço à minha amiga de longa data, Claudia Pinto, pelo apoio constante e por sempre me escutar nos momentos em que mais precisei. Sou imensamente grata por ter vocês como parte da minha vida

Ao meu amigo José, com quem compartilhei moradia no Brasil. Sua ajuda incondicional foi fundamental. José, sua amizade e apoio significaram muito para mim durante este período. Muito obrigado por estar ao meu lado e por todo o suporte que você me ofereceu.

Também agradeço aos meus colegas, Israel, Élica, Lourdes, Isabella, Ana Carolina, Maira, Judieldo, Wellima e Laura por toda a ajuda, conversas e risadas que tornaram minha experiência da melhor maneira, eles estiveram lá para ouvir minhas preocupações, me encorajar nos momentos difíceis e comemorar as conquistas alcançadas.

Agradeço também a todos que contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui

Aguyje!

SUMÁRIO

Página

ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
ÍNDICE DE QUADRO.....	XI
RESUMO.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. OBJETIVO GERAL.....	4
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3.1. CULTURA DO MILHO.....	4
3.2. MICRORGANISMOS DO SOLO E ASSOCIAÇÃO COM AS PLANTAS.....	6
3.3. LEVEDURA <i>TORULASPORA GLOBOSA</i>	8
3.4. BACTÉRIA <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	9
3.5. FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES.....	11
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	13
4.1.1. LEVEDURA.....	13
4.1.2. BACTÉRIA.....	13
4.1.3. MILHO.....	13
4.2. EXPERIMENTO DE CULTIVO DE MILHO EM CASA-DE-VEGETAÇÃO.....	14
4.2.1. ANÁLISE E CORREÇÃO DO SOLO UTILIZADO NO EXPERIMENTO.....	14
4.2.2. PRODUÇÃO DE INÓCULO.....	15
4.2.3. INÓCULO DA LEVEDURA.....	15
4.2.3.1. INÓCULO DA BACTÉRIA.....	16
4.2.3. DELINEAMENTO DO EXPERIMENTAL.....	16
4.3. ANÁLISES REALIZADAS.....	17
4.3.1. EMERGÊNCIA DAS PLANTAS.....	17
4.3.2. DESENVOLVIMENTO VEGETAL.....	17
4.3.3. TEOR DE CLOROFILA.....	18
4.3.4. QUANTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO CULTIVÁVEIS	19
4.3.5. AVALIAÇÃO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA).....	19
4.3.5.1. EXTRAÇÃO DOS ESPOROS DE FMA DO SOLO.....	19
4.3.5.2. QUANTIFICAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA NAS RAÍZES.....	20
4.3.6. QUANTIFICAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES.....	20
4.3.6.1. PROTEÍNAS TOTAIS.....	21
4.4. ANÁLISE DOS DADOS.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23

5.1.	EMERGÊNCIA DAS PLANTAS DE MILHO.....	23
5.2.	DESENVOLVIMENTO VEGETAL	25
5.2.1.	NÚMERO DE FOLHAS.....	25
5.2.2.	ALTURA DA PLANTA	27
5.2.3.	COMPRIMENTO E MASSA SECA DA PLANTA	30
5.3.	TEOR DE CLOROFILA.....	34
5.4.	FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA) E SOLUBILIZADORES DE P	36
5.5.	ENZIMAS ANTIOXIDANTES.....	40
6.	CONCLUSÕES	44
7.	LITERATURA CITADA	45

ÍNDICE DE TABELA

	Página
Tabela 1. Resultados da análise química de amostras de solo de áreas experimentais com cana-de-açúcar do CCA/UFSCar.....	14

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Prova de sinergismo entre a levedura <i>T. globosa</i> (linhagem 6S01) e a bactéria <i>Bacillus subtilis</i> (ENDO26).	13
Figura 2. Curva padrão para proteínas.....	21
Figura 3. Curva padrão para ácido trans-cinâmico	22
Figura 4. Índice de velocidade de emergência das plantas de milho durante e após o tratamento com células de levedura (6S01) e/ou bactéria (ENDO26).	23
Figura 5. Porcentagem final de emergência das plantas de milho.....	24
Figura 6. Crescimento relativo do número de folhas (A) e número médio de folhas (B) das plantas de milho submetidas aos tratamentos de inoculação com a levedura (6S01) e/ou bactéria (ENDO26).	26
Figura 7. Taxa de crescimento relativo (A) e valores médios (B) da altura das plantas de milho submetidas aos tratamentos de inoculação com a levedura (6S01) e/ou bactéria (ENDO26).	28
Figura 8. Comprimento (A) e massa seca da parte aérea (B) de plantas de milho ao fim dos 35 dias de experimento, após serem submetidas aos tratamentos de inoculação.	30
Figura 9. Comprimento de raiz (A) e massa seca das raízes (B) de plantas de milho ao fim de 35 dias de experimento, após serem submetidas aos tratamentos de inoculação.	33
Figura 10. Teor de clorofila das folhas de milho ao fim de 35 dias de experimento, após serem submetidas aos tratamentos de inoculação.	35
Figura 11. Número de esporos de FMA no solo (A) e colonização micorrízica de raízes de milho (B) em amostras submetidas às inoculações com a levedura (6S01) e/ou bactéria (ENDO26).....	37
Figura 12. Estruturas dos FMA observadas em esporos de solo e fragmentos de raízes de milho avaliadas. A- Detalhe das vesículas; B – hifas fúngicas externas às raízes, C – hifas fúngicas e vesículas; D- esporos no solo.....	38
Figura 13. Formação de halo de solubilização de fosfato inorgânico (seta) por colônia de fungos filamentosos (A) e bactérias (B), em meio BDYA.	40
Figura 14 A. Atividade da enzima peroxidase nos extratos vegetais de plantas de milho. ...	42
Figura 14 B. Atividade da enzima polifenoloxidase nos extratos vegetais de plantas de milho.....	42
Figura 14 C. Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase nos extratos vegetais de plantas de milho.	43

ÍNDICE DE QUADRO

Página

Quadro 1. Produtos biológicos registrados e comercializados no Brasil a base de <i>B. subtilis</i> (Fonte: Bioinsumos, aplicativo da EMBRAPA).....	10
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

EFEITO DA INOCULAÇÃO DA LEVEDURA *Torulaspora globosa* E DA BACTÉRIA *Bacillus subtilis* NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE MILHO

Autor: LIZ EVELYN GRIMALDI GÓMEZ

Orientador: Prof^a. Dr^a. MARCIA MARIA ROSA MAGRI

RESUMO

O milho (*Zea mays*) é uma das culturas mais importantes do mundo, fonte de alimentação humana e animal. O Brasil é um dos maiores produtores da cultura, sendo o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador mundial. Considerando a importância da agricultura para a economia do país, e a importância da cultura no contexto nacional, estudos que possibilitem aumento da produtividade agrícola, além de manejos agronômicos menos custosos e mais sustentáveis são fundamentais. O estudo das associações entre as plantas e microrganismos do solo tem mostrado resultados interessantes quanto a promoção de aumento de produtividade vegetal, além de possibilitar melhorias na nutrição vegetal e maior resistência das plantas a estresses bióticos e abióticos. Considerando o exposto, o objetivo desta dissertação foi avaliar a inoculação de sementes e plântulas de milho com células da levedura *Torulaspora globosa* (6S01) e/ou da bactéria *Bacillus subtilis* (ENDO26) na emergência, desenvolvimento inicial de plantas de milho, além da associação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) sob condições de casa-de-vegetação. A inoculação iniciou após a semeadura, e se repetiu em dias alternados por 7 dias. Foram utilizados 10 vasos por tratamento (levedura, bactéria, levedura + bactéria, controle com água). Os resultados de emergência de plantas mostraram que o tratamento com células de levedura proporcionou maior velocidade de emergência e maior porcentagem de plantas. Os resultados mostraram, porém, que o tratamento com células da bactéria proporcionou maior crescimento em comprimento, porém com menor massa seca na parte aérea. O inverso foi observado para as plantas tratadas com células de levedura, que tiveram menor comprimento, porém maior massa seca. Quanto ao número de folhas não houve diferença entre a inoculação isolada dos microrganismos. Quanto ao desenvolvimento radicular, tanto em comprimento quanto massa seca, a dupla inoculação foi a que apresentou melhores resultados. Quanto aos FMA, foi possível observar que a inoculação da bactéria promoveu aumento significativo dos esporos do solo e da colonização radicular. A levedura ficou atrás, porém a inoculação desta mostrou ser superior ao controle. Concluímos que a inoculação das plantas de milho com a levedura *T. globosa* e/ou com a bactéria *B. subtilis* promoveu significativo crescimento vegetal, e causou alterações na microbiota natural do solo, sendo linhagens com potencial para serem empregadas em produtos biológicos para agricultura.

Palavras-chave: microrganismos promotores de crescimento vegetal; fungos micorrízicos arbusculares, associação entre plantas e microrganismos; *Zea mays*

EFFECT OF INOCULATION OF THE YEAST *Torulaspota globosa* AND THE BACTERIA *Bacillus subtilis* ON THE INITIAL DEVELOPMENT OF MAIZE PLANTS

Author: LIZ EVELYN GRIMALDI GÓMEZ

Adviser: Prof^a. Dr^a. MARCIA MARIA ROSA MAGRI

ABSTRACT

Maize (*Zea mays*) is one of the most important crops in the world, a source of human and animal food. Brazil is one of the largest producers of the crop, being the third largest producer and the second largest exporter in the world. Considering the importance of agriculture for the country's economy, and the importance of culture in the national context, studies that enable an increase in agricultural productivity, in addition to less costly and more sustainable agronomic management, are essential. The study of associations between plants and soil microorganisms has shown interesting results in promoting increased plant productivity, in addition to enabling improvements in plant nutrition and greater plant resistance to biotic and abiotic stresses. Considering the above, the objective of this dissertation was to evaluate the inoculation of maize seeds and seedlings with cells of the yeast *Torulaspota globosa* (6S01) and/or the bacteria *Bacillus subtilis* (ENDO26) in the emergence and initial development of maize plants, in addition to the association with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under greenhouse conditions. Inoculation began after sowing and was repeated every other day for 7 days. 10 vessels were used per treatment (yeast, bacteria, yeast + bacteria, control with water). The plant emergence results showed that the treatment with yeast cells provided a faster emergence speed and a higher percentage of plants. The results showed, however, that treatment with bacteria cells provided greater growth in length, but with lower dry mass in the aerial part. The opposite was observed for plants treated with yeast cells, which had shorter length but greater dry mass. Regarding the number of leaves, there was no difference between the isolated inoculation of microorganisms. Regarding root development, both in length and dry mass, double inoculation was the one that showed the best results. As for AMF, it was possible to observe that the inoculation of the bacteria promoted a significant increase in soil spores and root colonization. The yeast lagged, but its inoculation proved to be superior to the control. We concluded that the inoculation of corn plants with the yeast *T. globosa* and/or the bacteria *B. subtilis* promoted significant plant growth and caused changes in the natural microbiota of the soil, being strains with the potential to be used in biological products for agriculture.

Key-words: plant growth-promoting microorganisms; arbuscular mycorrhizal fungi, association between plants and microorganisms; *Zea mays*

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é uma das culturas mais importantes do mundo e um dos principais organismos usados como modelo genético (ANDORF *et al.*, em 2019). Entre os cereais mais cultivados globalmente, o milho ocupa uma posição de destaque. Conforme Coelho (2021), o Brasil é o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador mundial. De acordo com o último levantamento da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), em setembro de 2023, o Brasil encerrou a safra de 2022/2023 com uma produção total de 322,8 milhões de toneladas, o que representa um aumento de 18,4% (50,1 milhões de toneladas) em comparação com o período anterior, estabelecendo assim um novo recorde. Esses números evidenciam a importância crescente da cultura do milho no Brasil e seu papel fundamental na economia agrícola do país.

O milho é conhecido por ser uma fonte significativa de nutrientes essenciais, incluindo energia, proteínas, gorduras e fibras. Em sua composição, em base seca, aproximadamente, 72% consistem em amido, 9,5% de proteínas, 9% de fibras e 4% de óleo. Esses componentes tornam o milho um alimento versátil e valioso em várias dietas ao redor do mundo (APARECIDA *et al.*, 2015). Se destaca por ser, um cereal amplamente consumido em todo o mundo, desempenha um papel crucial na alimentação tanto humana quanto animal, na qual, entre 60% e 80% do volume total de milho produzido no país é destinado à alimentação animal nas quais os principais são bovinos, suínos e aves (CONSULTORIA, 2022; KLEIN; VIDAL LUNA, 2020; CNA, 2023). O cultivo é dividido em duas épocas a primeira é denominada safra, ocorrendo durante o verão, e a segunda é chamada de safrinha (DUARTE *et al.*, 2015), essa distinção ressalta a importância desse cereal na agricultura.

Considerando a importância desta cultura, é fundamental explorar novas abordagens no seu manejo. O uso de microrganismos que promovem o crescimento vegetal (MPCV) emerge como uma alternativa que pode contribuir para o aumento da produção agrícola sem o aumento do uso de produtos químicos tóxicos e poluentes (ROJAS *et al.*, 2020). Os microrganismos associados com as plantas são essenciais na germinação das sementes e no desenvolvimento saudável das culturas (FIRDOUS *et al.*, 2019). O estudo da interação entre plantas e microrganismos nos ajuda a compreender os fenômenos desse ecossistema, possibilitando o desenvolvimento de

tecnologias agronômicas sustentáveis, com menor impacto ambiental (ROJAS *et al.*, 2020).

Na literatura é possível encontrar trabalhos que mostram o papel de bactérias, leveduras, fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e outros grupos microbianos na promoção do crescimento vegetal. Atuam direta ou indiretamente na planta, auxiliando seu desenvolvimento, sua nutrição, protegendo contra o ataque de pragas e doenças, ou induzindo sua resistência contra estresses bióticos e abióticos. Sua ação pode ser classificada em três categorias principais, bioestimuladores, biofertilizantes e agentes de biocontrole (LOPES *et al.*, 2021).

Dentre os microrganismos conhecidos por promover o crescimento vegetal as rizobactérias promotoras do crescimento (RPCP) desempenham um papel particularmente importante, pois colonizam de forma intensa as raízes das plantas e promovem o estímulo do crescimento vegetal (MAPA, 2021). Podem exercer efeitos positivos nas plantas por meio de diferentes mecanismos, como a melhora da absorção de nutrientes pela planta, por meio da solubilização de fosfatos, da fixação de nitrogênio, além da síntese de fitohormônios, como o ácido indol acético (AIA) (CONTRERAS-CORNEJO *et al.*, 2016; ZEILINGER *et al.*, 2016). As RPCP podem ser empregadas na agricultura como biofertilizante e no biocontrole, sendo atualmente bastante utilizadas na produção agrícola (FILHO *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2019). Rizobactérias do gênero *Bacillus* são amplamente conhecidas por promover o crescimento vegetal e melhorar a eficiência fotossintética, (LANNA *et al.*, 2010). A espécie *Bacillus subtilis* tem a capacidade de produzir substâncias com ação antimicrobiana, o que as torna útil no controle biológico de fitopatógenos (FILHO *et al.*, 2010).

As leveduras constituem um tipo microbiano muito empregado em processos biotecnológicos, sendo que recentemente tem crescido o número de estudos deste grupo como promotores de crescimento de plantas (ROSA *et al.*, 2010; AMPRAYN *et al.*, 2012). Segundo os resultados obtidos através de uma busca no Google Scholar, foram identificados um total de 4.606 estudos publicados entre 2010 e 2024. Esse número reflete a relevância e o potencial da levedura como um agente benéfico em diversas práticas agrícolas. Linhagens de levedura da espécie *Torulaspota globosa* mostraram possuir mecanismos de promoção de crescimento vegetal e como indutoras de resistência sistêmica em plantas (COLOMBINI, 2022). A levedura, em trabalhos anteriores, apresentou potencial biotecnológico como produtora de ácido

indol acético (AIA), solubilizadora de minerais (ROSA-MAGRI *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2019), e como agente de controle biológico contra fitopatógenos (ROSA-MAGRI *et al.*, 2011; NUTARATAT *et al.*, 2014).

Os FMA são fungos biotróficos que vivem em associação simbiótica com as raízes das plantas promovendo o aumento de absorção de água e nutrientes pelas plantas, (JALONEN *et al.*, 2013; MARTINS; MELLONI; MELLONI, 2017). Além disso, eles podem tornar a planta mais resistente a estresses naturais, facilitando as interações positivas, como a transferência de nutrientes, tais como fósforo (P), nitrogênio (N) e zinco (Zn) (JALONEN *et al.*, 2013; TEKAYA *et al.*, 2017). Um estudo realizado por Mohamet *et al.*, (2019) demonstraram que a inoculação simples de *Glomus sp* ou combinada com *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* contribui para o controle da infecção em plantas de feijão comum por *Sclerotium rolfsii*, aumentando a lignificação das paredes celulares das raízes e intensificando a competição com os fungos patogênicos pelos nutrientes do solo, reduzindo assim crescimento do fungo.

A agricultura brasileira desempenha um papel crucial na produção global de alimentos, têxteis e energia renovável, destacando-se como uma das poucas opções capazes de promover uma produção economicamente viável e ambientalmente sustentável. Através do constante desenvolvimento tecnológico e do empreendedorismo dos produtores rurais, o Brasil tem elevado significativamente a sua produtividade agrícola, ao mesmo tempo em que busca otimizar o uso da terra e preservar os recursos naturais (CONRADO *et al.*, 2019).

Por esses motivos, mostra-se como imperativo o estudo da inoculação de microrganismos benéficos em culturas de importância agrícola, com a identificação de grupos microbianos, espécies e linhagens competentes em se associar às plantas e trazer benefícios consistentes para o desenvolvimento de manejos agrícolas sustentáveis, resilientes e em harmonia com o meio ambiente. O emprego de MPCV na agricultura pode apresentar impacto significativo na redução ou substituição do uso de agroquímicos, contribuindo para uma proteção vegetal mais sustentável e em consonância com as novas exigências de qualidade ambiental.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito da inoculação da levedura *Torulaspóra globosa* (6S01) e da bactéria *Bacillus subtilis* (ENDO26) no desenvolvimento inicial, na colonização micorrízica e na produção de enzimas antioxidantes em plantas de milho.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a aplicação de células de *T. globosa* (6S01) e/ou *B. subtilis* (ENDO26), no desenvolvimento de plantas de milho;
- Avaliar a aplicação de células de *T. globosa* (6S01) e/ou *B. subtilis* (ENDO26) na colonização das raízes das plantas de milho por FMA e no número de esporos do fungo no solo;
- Avaliar a aplicação de células de *T. globosa* (6S01) e/ou *B. subtilis* (ENDO26) no número de solubilizadores de fósforo cultiváveis no solo;
- Avaliar a aplicação de células de *T. globosa* (6S01) e/ou *B. subtilis* (ENDO26) nos teores das enzimas antioxidantes peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina nas plantas de milho.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Cultura do Milho

O milho (*Zea mays*) é uma das culturas mais relevantes em nível mundial devido à sua importância histórica e amplo consumo em diversas regiões. Acredita-se que a espécie tenha se originado no México, América Central e sudoeste dos Estados Unidos, pois essas áreas são consideradas centros de diversidade e domesticação do milho. Essas regiões desempenham um papel fundamental no desenvolvimento das primeiras variedades cultivadas dessa planta, que se tornou um alimento básico para a alimentação humana (EMBRAPA, 2021). O milho é um cultivo adequado para todos os tipos de produtores agrícolas. Embora a maioria dos produtores seja composta por pequenos agricultores, hoje em dia, a produção de milho vem predominantemente de grandes explorações com grandes áreas cultivadas. Essas propriedades são em sua maioria modernas e competitivas, o que demonstra a capacidade do Brasil de participar agressivamente no mercado mundial de milho (KLEIN; VIDAL LUNA, 2020)

É importante destacar que em setembro de 2023 a CONAB divulgou dados que apontam novo recorde de produção de milho no Brasil, o que demonstra o avanço no investimento da produção nacional deste cereal e, conseqüentemente, na economia brasileira. Segundo o último levantamento da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), em setembro de 2023 o Brasil encerrou sua safra 2022/2023 de milho com uma produção total de 322,8 milhões de toneladas, o que representa um aumento de 18,4% (50,1 milhões de toneladas) em comparação com o período anterior, estabelecendo assim um novo recorde. No mês de fevereiro (2024), houve incrementos na estimativa da segunda safra de milho (0,3% ou 265.092 t), com uma superfície que diminuiu 1,4% e um rendimento médio aumentado em 1,7%. Os maiores aumentos de produção ocorreram em Rondônia (4,5% ou 62.576 t), Maranhão (0,5% ou 3.435 t), Minas Gerais (4,8% ou 135.408 t) e Mato Grosso (3,9% ou 1.560.223 t). As quedas foram observadas principalmente no Distrito Federal (-19,3% ou -51.000 t), em Mato Grosso do Sul (-8,1% ou -1.004.657 t), em Santa Catarina (-32,2% ou -26.261 t) e no Paraná (-2,8% ou -408.700 t). Mato Grosso, é o maior produtor de milho de segunda safra, com uma participação de 44,8% do total nacional, enquanto o Paraná permanece como o segundo produtor, com uma participação de 15,5% do total nacional, totalizando 14,2 milhões de toneladas. (IBGE, 2024).

Em escala global, oito países se destacam na produção de milho, resultando em mais de 25 milhões de toneladas (Mt), cada um, e juntos representam 881 Mt ou três quartos da produção mundial de milho. Entre esses países estão: Estados Unidos, China, Brasil, Argentina, Ucrânia, Indonésia, Índia e México (ERNESTEIN *et al.*, 2022). Essas nações representam uma parte significativa da produção mundial de milho e desempenham um papel crucial na segurança alimentar global. Hoje em dia, no Brasil, o milho ocupa o segundo lugar em termos de área cultivada e produção bruta, depois da soja (GUIMARÃES *et al.*, 2022). O Brasil se posiciona como o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador mundial de milho (ETENE, 2023).

Nos últimos 20 anos a produção nacional de milho teve um crescimento significativo, devido à sua capacidade de se adaptar facilmente a diferentes genótipos e condições climáticas, permitindo o seu cultivo em regiões com altitudes e climas variados. Durante esse período, a produção de milho aumentou de maneira significativa em 193,55%, enquanto a área dedicada ao cultivo teve um aumento de 45,79%, esse crescimento substancial reflete o sucesso e a expansão da indústria do

milho no país (SOUSA; BONAFIN E LIMA 2023), sendo o país reconhecido como um dos principais produtores de milho, situando-se em uma posição privilegiada para explorar e aproveitar o potencial desse cultivo como a produção de biomassa em diversos setores industriais, especialmente na produção de etanol. Nos últimos anos, temos observado um aumento notável na utilização do milho para a produção de etanol no Brasil, com um impressionante crescimento de aproximadamente 380% nas últimas décadas, o que levou o país a subir quatro posições no ranking internacional (NOTÍCIAS MT, 2023).

O rápido crescimento das exportações de milho nas últimas décadas transformou o Brasil em um dos principais exportadores de milho no mercado mundial entre os países sul-americanos. O Brasil, com sua versatilidade, conseguiu desenvolver uma indústria pecuária moderna que se baseia no fornecimento constante de rações elaboradas com soja e milho, levando ao aumento de sua população de gado bovino e suíno, assim como de granjas industriais comerciais de frangos ao mesmo tempo (KLEIN; VIDAL LUNA, 2020), sendo que entre 60% e 80% do volume total de milho produzido no país é destinado à alimentação animal principalmente dos já mencionados (CNA, 2023). Essa utilização estratégica do milho na indústria de ração animal desempenha um papel crucial na sustentabilidade da produção agropecuária do país. Em relação a dieta humana, o milho é um dos três cereais mais consumidos, podendo ser, em algumas situações, o único alimento no dia. Devido à sua composição química versátil, os grãos de milho, sejam verdes ou maduros, proporcionam uma variedade de derivados que são utilizados na produção de uma ampla gama de produtos. Esses derivados incluem desde o simples fubá até os famosos "chips", que são itens inseparáveis das lancheiras escolares da maioria das crianças brasileiras (TEIXEIRA, 2021). O milho também se converte em uma das espécies de plantas modelo mais amplamente utilizadas para pesquisas fundamentais, com muitas descobertas importantes relatadas por pesquisadores de milho (LIU; FERNIE e YAN, 2020).

3.2. Microrganismos do solo e associação com as plantas

Os microrganismos são a base na cadeia alimentar, principalmente porque apresentam um papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos (BLAKE; CRHISTENSEN e KOVÁCS, 2020). O solo abriga uma ampla variedade de microrganismos benéficos, como bactérias e fungos, que desempenham um papel

crucial no desenvolvimento das plantas e na promoção do crescimento vegetal. Isso destaca a importância de estudar a presença de microrganismos do solo uma vez que se relacionam e influenciam diretamente as plantas (ARIAS PEÑALOZA, 2021)

O estudo da interação entre plantas e microrganismos é fundamental para obter resultados valiosos sobre os fenômenos que ocorrem nos ecossistemas. Essa compreensão profunda não apenas enriquece nosso conhecimento sobre a dinâmica da vida vegetal e microbiana, mas também oferece uma base sólida para o desenvolvimento de aplicações tecnológicas (BADÍA *et al.*, 2020). As interações planta-microrganismos geralmente ocorrem principalmente em três locais da planta: filosfera, endosfera e rizosfera. A filosfera está relacionada com as partes aéreas (caule, folhas e flores ou frutos) enquanto a endosfera está associada ao sistema de transporte dentro da planta, e a rizosfera, que é o ambiente ao redor das raízes (TORSVIK e OVREAS, 2002). É importante destacar que a rizosfera, além de ser o principal local de absorção de nutrientes pelas raízes das plantas, também é um ambiente onde ocorrem importantes atividades fisiológicas, químicas e biológicas, sendo as bactérias o grupo mais abundante (SAHAGÚN, 2020).

Os microrganismos benéficos do solo são capazes de se estabelecer na rizosfera e controlar pragas e fitopatógenos, ao mesmo tempo em que promovem a indução do sistema imunológico da planta (LI; HU e LIN, 2021), tais como aumento da tolerância ao estresse por seca, salinidade e ataques bióticos, também melhoram a absorção de nutrientes pelas raízes, promovem uma maior taxa de germinação e estimulam o crescimento das plantas através da produção de fitohormônios (BASU *et al.*, 2021). No contexto de uma agricultura limpa e amigável ao meio ambiente, o uso de microrganismos benéficos tornou-se uma ferramenta fundamental e de grande utilidade (ARROYO *et al.*, 2020). Nos últimos anos, houve um aumento significativo na adoção do controle biológico de fitopatógenos, substituindo assim o uso excessivo de produtos químicos (FONTES e INGLIS, 2020). Atualmente podemos encontrar produtos biológicos a base de microrganismos de solo, comercializados no mercado agrícola, que beneficiam significativamente a saúde e o desenvolvimento das plantas (SALOME, 2023). Alguns dos microrganismos mais utilizados na agricultura são os fungos dos gêneros *Trichoderma* e *Beauveria*, diversas espécies de micorrizas e bactérias do gênero *Bacillus*, sendo este último grupo usado no controle de fitopatógenos por meio de diferentes mecanismos de ação, como antibiose, micoparasitismo ou competição (ARROYO *et al.*, 2020).

Essas aplicações podem conduzir a processos de produção agrícola mais sustentáveis, contribuindo para a redução do impacto ambiental e da contaminação. Além disso, ao explorar essa interação de maneira estratégica, podemos alavancar seu potencial para melhorar o crescimento das plantas destinadas à produção de alimentos, biocombustíveis e metabólitos-chave. Essa abordagem não apenas impulsiona a eficiência agrícola, mas também promove práticas agrícolas mais sustentáveis e resilientes a longo prazo (BADÍA *et al.*, 2020).

3.3. Levedura *Torulaspora globosa*

As leveduras são microrganismos unicelulares eucarióticos, pertencentes ao reino dos Fungos e classificados nos filos Ascomycetes ou Basidiomycetes (NIMSI *et al.*, 2022). São encontradas de forma natural no solo e na superfície das plantas e apresentam potencial para aplicações biotecnológicas em diversas áreas e, também, como promotora de crescimento vegetal e antagonista a fitopatógenos (ROSA *et al.*, 2010; AMPRAYN *et al.*, 2012). São um grupo microbiano capaz de aproveitar diversas fontes de carbono, como glicose, sacarose, frutose, galactose, maltose, soro hidrolisado e álcool, para obter energia e crescer, o que torna as leveduras organismos muito versáteis tanto no laboratório quanto na indústria (MOROCHO e LEIVA, 2019).

É possível encontrar na literatura científica diversos trabalhos que mostram as leveduras como promotoras de crescimento das plantas sendo que os mecanismos identificados mostram sua capacidade de induzir tolerância a estresses, produzir fitohormônios, solubilizar fosfatos, produzir exopolissacarídeos e estimular a colonização das raízes das plantas por FMA (PÉREZ *et al.*, 2023). Como base de produtos biológicos para uso na agricultura, porém, as leveduras têm recebido menos atenção entre os grupos microbianos, devido a sua densidade populacional relativamente baixa no solo, e pouco conhecimento sobre seu papel na rizosfera e os mecanismos de associação com as plantas (KURTZMAN e PIŠKUR, 2006). Até o momento atual, menos de 1% das espécies de leveduras na natureza foram isoladas e identificadas (KURTZMAN e PIŠKUR, 2006; STARMER e LACHANCE, 2011; SEGAL-KISCHINEVZKY *et al.*, 2022). Infelizmente, a maioria delas não pode ser cultivada em laboratórios, tornando sua investigação ainda mais desafiadora (NINSI *et al.*, 2023).

Uma gama diversificada de espécies de leveduras exibe características de biocontrole e promoção do crescimento de plantas (YURKOV, 2018; FU *et al.*, 2016).

Dentre as leveduras estudadas como MCPV, a espécie *Torulaspota globosa* tem sido estudada, por ser comumente isolada da rizosfera e do solo, e por mostrar potencial biotecnológico como produtora de AIA, solubilizadora de minerais (ROSA-MAGRI *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2019), também atua como agente de controle biológico contra fitopatógenos (ROSA-MAGRI *et al.*, 2011; NUTARATAT *et al.*, 2014), e induzir resistência vegetal (COLOMBINI, 2022). Rosa-Magri *et al.*, (2011) observaram que a linhagem de *T. globosa* (1S112), possui ação antifúngica contra o fitopatógeno *Colletotrichum graminicola*, agente causal da doença de antracnose em milho. Bosqueiro, Bizarria Jr. e Rosa-Magri (2023) estudaram a espécie *Torulaspota indica*, e revelaram que atua como agente de controle biológico contra a podridão negra de pós-colheita em frutos de tomate. Os estudos demonstraram que a levedura é capaz de inibir tanto o crescimento quanto a germinação do patógeno *alternaria arborescens* na cultura de tomate, além de reduzir significativamente os sintomas causados por ele quando inoculada nas feridas dos frutos. Por outro lado, Cabrini, Sala, Rosa-Magri (2019) observaram os efeitos da levedura *T. globosa* (CCA5S55) e seus metabólitos na germinação e desenvolvimento inicial de duas variedades de alface, *Crocantela* e *Valentina*. Os resultados indicaram que a inoculação das sementes e das mudas promoveu incremento significativo na produção de alface no campo, com aumento de 27% de massa fresca da parte aérea com aumento no número médio de folhas. Colombini, Cecatto-Antonini, Rosa-Magri (2022), avaliaram o uso da levedura *T. globosa* (CCA6S01), como elicitora para resistência sistêmica induzida (RSI) em milho contra *F. verticillioides*. A aplicação de células da levedura proporcionou ao milho redução dos sintomas de podridão e maior atividade de enzimas relacionadas à resistência das plantas. Os resultados mostram grande potencial do emprego da espécie para promover resistência da planta a estresses bióticos, e potencialmente estresses abióticos.

3.4. Bactéria *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis é uma bactéria gram-positiva não patogênica, que habita no solo e se encontra naturalmente associada com as plantas em sua rizosfera, além de serem amplamente utilizadas na produção de enzimas extracelulares, em escala mundial (ALVES *et al.*, 2018; ARNAOUTELI *et al.*, 2021). Pode secretar numerosas enzimas que são capazes de degradar uma variedade de substratos, essa habilidade se torna crucial para sua sobrevivência em um ambiente de mudança constante.

Nessa rápida adaptação em condições variáveis, a bactéria pode utilizar eficientemente os recursos disponíveis, garantindo sua viabilidade (SU *et al.*, 2020). A formação de esporos representa uma vantagem competitiva significativa para *B. subtilis* em comparação com outras bactérias do solo que não possuem essa capacidade (QUIN *et al.*, 2022), o que permite que possam sobreviver em circunstâncias adversas como altas temperaturas e estresse hídrico (KOVÁCS, 2019).

A bactéria tem a capacidade de produzir substâncias com ação antimicrobiana, o que as torna útil no controle biológico de fitopatógenos (FILHO *et al.*, 2010). É considerada uma rizobactéria promotora de crescimento vegetal (RPCV) pois pode ser usada como biofertilizante e no biocontrole, por isso são amplamente utilizadas na produção agrícola (WU *et al.*, 2019). No Brasil há vários produtos biológicos comerciais a base de linhagens de *B. subtilis*, empregados para promoção de crescimento vegetal ou controle biológico (Quadro 1).

Quadro 1. Produtos biológicos registrados e comercializados no Brasil a base de *B. subtilis* (Fonte: Bioinsumos, aplicativo da EMBRAPA).

Nome Comercial/Empresa	Cultura	Aplicação	Doença/Praga
Bioma Indústria	Milho	Promoção de crescimento vegetal	—
Biotrop	Alface, Milho	Promoção de crescimento vegetal	—
Vittia	Eucalipto	Promoção de crescimento vegetal	—
Solubio	Eucalipto	Promoção de crescimento vegetal	—
Bio-immune (Vittia)	Feijão, soja, morango, citros	Controle biológico	<i>Colletotrichum sp.</i> , <i>Sclerotinia sp.</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Xanthomonas sp.</i> , <i>Alternaria solani</i>
Serenade (Bayer)	Tomate, pimentão, alface, feijão, uva, banana, manga.	Controle biológico	<i>Sclerotinia sp.</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Pythium ultimum</i> , <i>Alternaria sp.</i> , <i>Colletotrichum sp.</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Xanthomonas sp.</i>
Companion	Várias	Controle biológico	Doenças foliares e podridões radiculares
Furatrop	Soja	Controle biológico	Nematicida
Biobac (UPL)	Maça, feijão, cebola, café	Controle biológico	<i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Alternaria porri</i> , <i>Neofabraea perennans</i>
Baktillis (Mezfer Br)	Soja, feijão, frutos	Controle biológico	<i>Fusarium solani</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Colletotrichum glosporioides</i>
Row-Vispo (Tradecorp Brasil)	Soja, Café	Controle biológico	<i>Phakopsora pachyrhizi</i> , <i>Hemileia vastatrix</i>

Estudos mostram que a interação da planta com a bactéria resulta na melhoria da eficiência fotossintética, o que contribui para o desenvolvimento geral e para a resistência contra estresses ambientais, promovendo o aumento do teor dos nutrientes nas folhas (CORRÊA *et al.*, 2010). Há trabalhos demonstrando que a incorporação adequada da bactéria pode impulsionar a fertilidade do solo e aumentar significativamente o rendimento das colheitas, representando um avanço importante para a agricultura sustentável. As propriedades benéficas de *B. subtilis* são exploradas em muitos produtos biológicos comerciais (BORRISS, 2015). Trabalhos realizados por Jain *et al.*, (2016) demonstraram que isolados de *Bacillus* incrementam o peso fresco da parte aérea e da raiz, além de aumentar o número de raízes laterais em soja. Calvo, *et al.*, (2022) estudaram os efeitos de duas cepas de *B. subtilis* no crescimento de milho; e observaram que as linhagens estimularam seu crescimento.

3.5. Fungos Micorrízicos Arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) estabelecem uma associação simbiótica com as raízes da maioria das plantas terrestres, sendo a forma mais comum de simbiose entre plantas e fungos no solo (PEREIRA *et al.*, 2022). Esses fungos, pertencentes ao filo Glomeromycota, desempenham um papel fundamental no crescimento e na saúde das plantas, proporcionando uma série de benefícios mútuos. Nessa simbiose, as plantas fornecem substratos energéticos aos FMA, enquanto os fungos auxiliam na absorção de nutrientes e água do solo, além de aumentar a resistência das plantas a diversos estresses, sejam eles bióticos ou abióticos (PEREIRA *et al.*, 2022; GENRE e BONFANTE, 2010; MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Essa cooperação beneficia tanto os fungos quanto as plantas, resultando em melhorias significativas na absorção de nutrientes, com destaque para o fósforo (MORAN *et al.*, 2022).

Os FMA são conhecidos como os ancestrais das raízes das plantas, tendo surgido na evolução antes das raízes propriamente ditas (KUYPER e JANSA, 2023). Os micélios dos FMA desempenham um papel crucial, conectando o solo às células corticais das raízes e facilitando a interação entre ambos (HU *et al.*, 2019). Essa conexão contribui para a absorção eficiente de água e nutrientes pelas plantas, bem como para a indução da resistência contra doenças em plantas de interesse agrônomo, como o milho (JALONEN *et al.*, 2013; MARTINS, MELLONI e MELLONI, 2017).

Nardi *et al.*, (2023) enfatizaram em seu estudo que aproximadamente do 90% da flora terrestre apresenta um potencial para estabelecer-se em simbioses com fungos micorrízicos. O micélio dos FMA, desempenha um papel fundamental na simbiose entre plantas e fungos, na qual estabelece conexões cruciais entre o solo e as células corticais das raízes das plantas (MORAN *et al.*, 2022) e promove a expansão da zona de depleção de nutrientes em torno das raízes das plantas, o que resulta em um notável aumento na absorção de nutrientes presentes no solo (LIMA, 2020). Os FMA são biotróficos obrigatórios, pois precisam das plantas hospedeiras para completar o seu ciclo de vida (BERRUTI *et al.*, 2017; IJDO *et al.*, 2010)

Zambrano Vera *et al.*, (2019) conduziram um estudo avaliando o efeito de fungos micorrízicos arbusculares em plântulas de milho (*Zea mays L.*), e observaram que a inoculação de *Sclerocystis sinuosa* resultou em uma maior colonização de FMA. No entanto, não foram observadas diferenças significativas na altura, biomassa e crescimento das plantas de milho. Outro lado, Perez, García e Pimentel (2021) determinaram o efeito dos FMA na fase inicial do crescimento do milho, inoculando *Glomus cubenses* e *Glomus intraradices*. Eles observaram um aumento no diâmetro e altura das plantas nos primeiros 45 dias após a germinação, sem a necessidade de aplicação de fertilizantes químicos. Jaén Contreras *et al.*, (2022) estudaram a qualidade de hastes florais de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Raf.) inoculadas com *Bacillus subtilis* e *Glomus intraradices*, sendo que a inoculação de apenas o fungo ou da combinação fungo e bactéria promoveram aumento significativo no tamanho dos talos, alcançando comprimento de 66,92 cm e 65,51 cm, respectivamente. Mohamed *et al.*, (2019) estudaram a parceria de rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPR) e micorrizas para melhorar o crescimento e a utilização de nutrientes por plantas de feijão comum em um solo infectado com fungos de podridão branca; a combinação de PGPR e FMA possui um efeito positivo com o aumento na atividade das enzimas quitinase, peroxidase e polifenoloxidase, reduzindo a infecção por *Sclerotium rolfsii* e mostrando significativa capacidade dos microrganismos como bioagentes de controle de doenças.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material Biológico

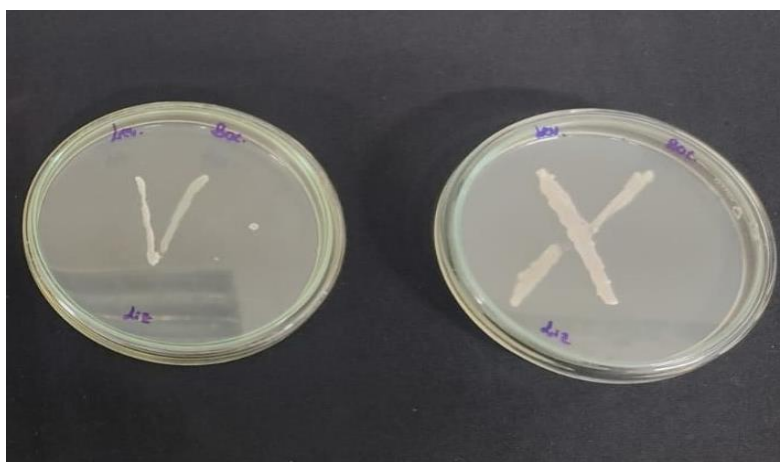
4.1.1. Levedura

Foi utilizada a linhagem de levedura *T. globosa* (linhagem 6S01) isolada da rizosfera de milho, que pertence ao banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM) da Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, campus Araras/SP. A levedura foi selecionada por apresentar potencial para a promoção do crescimento vegetal (CABRINI; SALA; MAGRI, 2019; ALBERTINI *et al.*, 2022). Essa linhagem é mantida em tubos de ensaio com meio inclinado YEPD (10 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de peptona, 20 g/L de dextrose e 15 g/L de agar), cobertos com óleo mineral, na geladeira a 8°C.

4.1.2. Bactéria

A linhagem utilizada foi a bactéria *Bacillus subtilis*, (ENDO26), bactéria endofítica, isolada de raiz de cana-de-açúcar (BEZERRA *et al.*, 2022). A linhagem é pertencente ao banco de microrganismos de Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), da Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, campus Araras/SP. Essa linhagem é mantida em tubos de ensaio com meio inclinado Nutriente Ágar (1g/l Extrato de carne, 2g/l extrato de levedura, 5g/l peptona, 5g/l cloreto de sódio), cobertos com óleo mineral, na geladeira a 8°C.

Figura 1. Prova de sinergismo entre a levedura *T. globosa* (linhagem 6S01) e a bactéria *Bacillus subtilis* (ENDO26).



4.1.3. Milho

As sementes de milho utilizadas pertencem à variedade IAC AIRAN lote IA 43/2021, com uma capacidade germinativa de 89%, com germinação mínima de 60% e pureza física de 99,9%; foram cedidas pela Profa. Dra. Anastácia Fontanetti, do Núcleo de Estudo e Pesquisa em Agricultura de Conservação (Nepac), do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de São Carlos, do Campus de Araras/SP.

4.2. Experimento de cultivo de milho em casa-de-vegetação

4.2.1. Análise e correção do solo utilizado no experimento

O solo usado no experimento foi coletado na área da quadra 14 do Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal de São Carlos, no Campus de Araras/SP com coordenadas geográficas -22.312683, -47.384134. Os resultados da análise química do solo para fins de fertilidade estão na Tabela 1.

A recomendação de adubação mineral para milho foi baseada nos critérios atualizados publicados na Edição 2022 do Boletim Técnico nº 100 do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). A aplicação nos vasos, que tinham 20 cm de diâmetro, foi feita com 12 gramas de NPK 04-14-08, distribuídas proporcionalmente ao longo do diâmetro do vaso, em sulcos a 5 centímetros de profundidade e misturadas ao solo para posterior semeadura do milho.

Tabela 1. Resultados da análise química de amostras de solo de áreas experimentais com cana-de-açúcar do CCA/UFSCar.

Determinações	Amostra 5075
B água quente (mg.dm ³)	0.23
Cu DTPA (mg.dm ³)	2.4
Fe DTPA (mg.dm ³)	13.5
Mn DTPA (mg.dm ³)	6.9
Zn DTPA (mg.dm ³)	0.9
pH CaCl ₂	5.43
M.O Colorimétrica (g.dm ³)	24.2
Fósforo Resina (mg.dm ⁻³)	16.5
S Fosfato de cálcio 0,01 mol L ⁻¹ (mg.dm)	<12
Calcio KCL 1 mol/L (mmolc.dm ³)	28.3
Magnésio KCL 1 mol/L(mmolc.dm ³)	13.8
Potássio Resina(mmolc.dm ³)	0.3
Alumínio KCL 1 mol/L(mmolc.dm ³)	<0.1
H+Al SMP (mmolc.dm ³)	36.4
SB mmolc.dm ³)	42.4
CTC mmolc.dm ³)	78.8
V (%)	54
M (%)	0

SB: soma de bases trocáveis; CTC: capacidade de troca de cátions; V: saturação da CTC por bases; M: saturação por alumínio; métodos de extração com água quente e determinação por colorimetria (B); extração por DTPA e determinação por espectrometria de absorção atômica (Cu, Zn, Mn e Fe); CaCl de cálcio 0,01 mol/L em pH método colorimétrico extraído com resina trocadora de íons (P), determinação de turbidimetria e extração com fosfato de cálcio 0,01 mol/L (S); extração com resina trocadora de íons e determinação em espectrometria de emissão atômica (k), extração com cloreto de potássio e determinação em espectrometria de absorção atômica (Ca, Mg); método titulométrico extraído com cloreto de potássio 0,01 mol/L (A), extração com tampão SMP (H+A).

A recomendação foi gentilmente orientada pelo Prof. Dr. Marcio Roberto Soares, do Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental, CCA, UFSCar, de acordo com os seguintes cálculos:

A quantidade necessária (QN):

$$\text{QN NPK (kg ha}^{-1}\text{)} = \frac{(\Sigma \text{ dos nutrientes recomendados}) \times 100}{(\Sigma \text{ nutrientes da fórmula})}$$

$$\text{QN NPK (kg ha}^{-1}\text{)} = \frac{(45 + 100 + 50) \times 100}{(04 + 14 + 08)} = 750 \text{ kg ha}^{-1} \text{ de NPK } 04 - 14 - 08$$

$$\text{Quantidade de NPK } 04 + 14 + 08 \text{ por m linear (g m}^{-1}\text{)} = \frac{750.000 \text{ g}}{13.0} \cong 58 \text{ g m}^{-1}$$

4.2.2. Produção de inóculo

4.2.3. Inóculo da levedura

Para o preparo do inóculo, a levedura *T. globosa* (6S01) foi reativada em placas de Petri com meio YEPD sólido e incubadas a 25°C até o desenvolvimento das colônias. Foram transferidas duas alçadas de biomassa celular da levedura em crescimento ativo das placas de Petri para dois frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 125 mL do meio de crescimento líquido, Batata Dextrose Broth (BD) (Neogem®). Os frascos foram mantidos sob agitação de 160 rpm, a 25°C por 48 horas. Após esse período, o cultivo foi transferido para tubos Falcon de 50 ml esterilizadas, os quais foram centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi separado e as células foram ressuspensas em solução salina (NaCl 0,85%) estéril. A contagem das células foi realizada em câmara de Neubauer e padronizadas para 1x10⁷ células

viáveis/ml, utilizando-se a solução do corante azul de metileno-citrato de sódio para contagem de células viáveis (LEE *et al.*, 1981).

4.2.3.1. Inóculo da bactéria

Para o preparo do inóculo da bactéria *B. subtilis*, foi realizada a reativação da cultura em placas de Petri com meio NA (Nutriente Ágar) (Kasvi®) sólido e incubadas a 30°C até o desenvolvimento das colônias. Foram transferidas duas alçadas de biomassa celular bacteriana em crescimento ativo para três frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 125 mL do meio de crescimento líquido Caldo Nutriente (Kasvi®), sob agitação de 160 rpm, a 30°C por 24 horas. Após esse tempo, a cultura foi transferida para tubos de Falcon de 50 ml esterilizados, e centrifugados a 8000 rpm por 10 min a 4°C. O sobrenadante foi separado e as células foram ressuspensas em solução salina (NaCl 0,85%) estéril. A suspensão celular utilizada como inóculo foi padronizada em espectrofotômetro para ~ 0,8 de absorbância em (600 nm), equivalente a 5×10^8 UFC/mL (BEZZERRA *et al.*, 2022).

4.2.3. Delineamento do experimental

O experimento foi realizado entre os dias 15 de janeiro e 20 de fevereiro de 2024, em casa de vegetação localizada no campus da UFSCar em Araras/SP. A temperatura no período apresentou variação entre máxima e mínima de 34 a 22°C, respectivamente (Google Maps). Foram utilizados vasos de 5 L de capacidade, e após a alocação do solo nos vasos foi realizada a semeadura do milho, sendo colocadas 5 sementes por vaso. Em seguida o solo foi umedecido com água de torneira, com a manutenção de umidade a 80% da capacidade de campo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, sendo eles: T1 - inoculação de células da levedura (1×10^7 de células. ml^{-1}), T2 - inoculação de células da bactéria ($0,8 A_{600\text{nm}}$), T3 - aplicação de células de levedura e bactéria ($0,8 A_{600\text{nm}} + 1 \times 10^7$ de células. ml^{-1}), T4 - controle (água). Foram usados 10 vasos por tratamento. As células de levedura e bactéria, e o controle (água), foram aplicados em dois locais: pulverizados no substrato (após a semeadura) e na parte aérea da planta (após a emergência), em ambos os casos utilizando borrifadores (aproximadamente 6 ml. vaso^{-1} por aplicação). A primeira aplicação foi feita no dia em que as sementes foram semeadas nos vasos. As outras aplicações foram realizadas em dias alternados, desde o 1º dia até o 9º dia após a semeadura, totalizando quatro

aplicações. Após a emergência das plantas, foi realizado o desbaste com a manutenção de uma planta por vaso. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 35 dias.

4.3. Análises realizadas

4.3.1. Emergência das plantas

Após a semeadura do milho nos vasos, foram realizadas avaliações diárias para quantificar o número de plantas emergentes por vaso por tratamento. As avaliações foram realizadas no 4º (início da emergência), 5º e 6º dia após a semeadura (DAS). Com os dados obtidos foi realizado o cálculo de Índice de Velocidade de Emergência (IVE), utilizando a fórmula de acordo com Maguire (1962): $IVE = (N1/E1) + (N2/E2) + (Nn/En)$, onde IVE= índice de velocidade de emergência; E1, E2, En= número de plantas normais emergidas na primeira, segunda, terceira e última contagem; N1, N2, Nn= número de dias após a semeadura. Ao fim da emergência, antes do desbaste das plantas do vaso (6ºDAS), foi realizada a quantificação final do número de plantas emergidas. Com este dado foi realizado o cálculo de porcentagem final de emergência das plantas para cada tratamento.

4.3.2. Desenvolvimento vegetal

A análise do desenvolvimento das plantas foi realizada semanalmente para as variáveis altura da planta e número de folhas, e teve início após total emergência das plantas e desbaste, com a manutenção de uma planta por vaso. Com os dados obtidos (altura da planta e número de folhas) foi realizado o cálculo de crescimento relativo, de acordo com Salinas (2022). A taxa de crescimento relativo (TCR) corresponde ao aumento da altura/número de folhas por unidade de tempo (a cada semana de análise), expresso em cm.dia^{-1} para altura da planta, ou expresso em número de folhas dia^{-1} , para a avaliação de incremento de folhas por planta. Para isso, foi utilizada a seguinte fórmula: $TCR = 1 / Li * \Delta L / \Delta t$, onde: Li = dado inicial, ΔL = dado final - dado inicial e Δt = tempo final - tempo inicial.

Ao fim de 35 dias de experimento as plantas foram colhidas, foram separadas em parte aérea e raiz, e foram realizadas as medidas de comprimento e massa seca da parte aérea e raiz. As medidas semanais de altura da planta, e do comprimento,

ao fim do experimento, foram realizadas com fita métrica. Para a avaliação da altura da parte aérea foi considerada a medida a partir da base da planta ao nível do solo até o ponto de inserção da folha bandeira. Para a análise de massa seca, a parte aérea e as raízes foram acondicionadas em saco de papel separadamente, e secadas a 60°C até atingir peso constante, aferida em balança analítica.

4.3.3. Teor de clorofila

A amostra foliar de milho a foi retirada da terceira folha da planta e pesada em uma balança eletrônica com precisão de 0,0001 g, e a massa foi registrada como 'm' na unidade de g. Em seguida, aproximadamente 0,1 g de carbonato de cálcio e 0,5 mL de acetona 80% foram macerados em almofariz com pistilo até uma pasta uniforme. Foram adicionados 5 mL de acetona a 80% para continuar a maceração até o tecido foliar ficar branco. A solução de extração de clorofila foi filtrada usando papel filtro e depois diluída com acetona 80% até um volume final de 25 mL em balões volumétricos embrulhados em papel alumínio para proteger contra a luminosidade do ambiente. O volume final da solução de extração de clorofila foi registrado como 'V' em unidade de mL. Foram realizadas medidas de absorvância a 645 nm (A₆₄₅) e 663 nm (A₆₆₃) da solução de extração de clorofila. O conteúdo de clorofila (mg·L⁻¹) da solução de extração de clorofila foi determinado usando as seguintes equações: Eq. (1) para clorofila a; Eq. (2) para clorofila b; e Eq. (3) para clorofila total. A transformação dos teores de clorofila em mg·g⁻¹ da folha de milho foi calculado usando a Eq. (4) de acordo com Arnon (1949).

$$\text{Eq (1) Clor a (Ca)} = 12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$$

$$\text{Eq (2) Clor b (Cb)} = 22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$$

$$\text{Eq. (3) Clor total (Ct)} = 8.05 \times A_{663} + 20.29 \times A_{645}$$

$$\text{Eq. (4) Clor (mg.g}^{-1}\text{)} = \frac{C^* \times V}{m \times 1000}$$

(*) usar os resultados dos cálculos dos teores de Ca, Cb ou Ct

4.3.4. Quantificação de microrganismos solubilizadores de fósforo cultiváveis

Ao fim do experimento em casa de vegetação foram separados 10 gramas de solo de uma amostra simple e colocada em Erlenmeyer de 125 ml com 90 ml de solução salina (NaCl 0,85%) estéril. Em seguida, os Erlenmeyer foram levados para um agitador de bancada por 30 minutos, a 150 rpm, com o objetivo de homogeneizar a suspensão de solo. Após a agitação, foram feitas diluições seriadas decimais até 10^{-7} . Cada diluição foi plaqueada em meio BDYA e as placas foram incubadas a 30°C até o crescimento das colônias e determinação do número de UFC de solubilizadores. g^{-1} de solo. Usaram-se triplicatas para cada diluição. Foi utilizado o meio de cultivo BDYA para solubilizadores e para seu preparo utilizou-se uma mistura contendo: Caldo de batata dextrose (BD) (Kasvi®) (24g), Extrato de levedura (0,2g) e Agar (20g) para um volume de 1000 ml. Além disso, foram preparadas 100 mL de solução de fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4) 10% e 200 mL de solução de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) 10%, sendo estas soluções filtradas em membrana de 0,22 μm para esterilização. As soluções foram adicionadas e homogeneizadas ao meio de cultura autoclavado antes de verter na placa de Petri. A capacidade das colônias em solubilizar fosfato foi avaliada pela formação de um halo transparente ao redor da colônia, em contraste com o meio opaco (KANG *et al.*, 2002).

4.3.5. Avaliação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

4.3.5.1. Extração dos esporos de FMA do solo

Ao final do experimento foram coletados 50 gramas de solo de uma amostra simple dos vasos para cada um dos tratamentos. A amostra foi colocada em um Becker de 2000 ml com 1000 ml de água de torneira. Em seguida, a mistura foi agitada com um bastão de vidro e deixada em repouso por um minuto. Posteriormente, a suspensão foi vertida em um conjunto de 3 peneiras (250 μm , 53 μm e 38 μm) e esse processo foi repetido duas vezes. Em seguida, as amostras retidas na peneira mais fina (38 μm), foram recuperadas em tubo Falcon de 50 ml e centrifugadas a 3000 rpm por 3 minutos. O sobrenadante foi descartado e uma solução de sacarose 50% foi adicionada para ressuspender a amostra. Essa suspensão foi centrifugada a 1750 rpm por um minuto e os esporos encontrados no sobrenadante foram recuperados.

Esses esporos foram lavados com água de torneira na peneira mais fina e depois recuperados em um novo tubo Falcon. As amostras foram avaliadas em microscópio estereoscópico e o número de esporos por amostra foi determinado em contagem usando placa própria (Siracusa) (GERDEMANN e NILSON,1963).

4.3.5.2. Quantificação da colonização micorrízica nas raízes

Dois gramas de raízes finas foram lavados em água corrente para retirar o excesso de solo; as raízes foram colocadas em um tubo Falcon (50 mL) previamente identificado e adicionado solução de hidróxido de potássio (KOH) 10% até cobrir totalmente a amostra, deixando a mistura em repouso por 48 horas em temperatura ambiente, até conseguir a coloração amarelo palha das raízes. Uma vez clarificadas, as raízes foram lavadas com água destilada várias vezes antes de seguir para a etapa de coloração. Para tal, as raízes foram colocadas em tubos Falcon com solução de tinta de caneta 5% deixando repousar por 24 horas. Após o período, as raízes foram retiradas da solução de coloração, lavadas com água várias vezes, e preservadas em solução de ácido láctico, glicerina e água (1:1:1), permanecendo nesta condição até o momento da avaliação. Fragmentos das raízes coradas foram avaliadas em microscópio óptico, sendo realizado o cálculo de número de fragmentos, e destes quais apresentavam alguma estrutura do fungo micorrízico (vesícula, arbúsculo e/ou hifas). Desta aferição foi calculada a porcentagem de fragmentos colonizados (PHILLIPS e HAYMAN,1970).

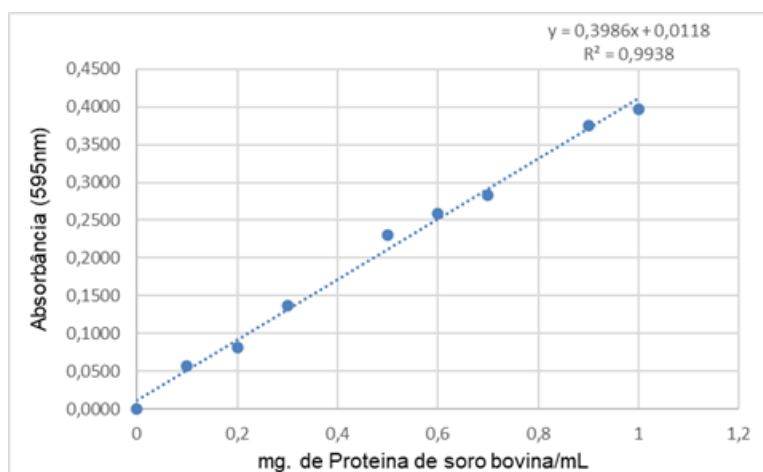
4.3.6. Quantificação de enzimas antioxidantes

Ao fim do experimento, amostras de folhas de plantas de milho foram amostradas e mantidas em freezer -80°C até análise. Plantas cultivadas nas mesmas condições e tratadas com ácido acetilsalicílico (AAS) foram usadas como controle positivo, considerando que o AAS é um indutor químico para a produção de enzimas antioxidantes, por estimular o sistema de defesa vegetal. As plantas tratadas com AAS receberam o ácido na concentração de 100 mg/L. O reagente foi diluído inicialmente em 2 ml de dimetilsulfóxido, composto que não apresenta alterações e toxicidade à planta, e água destilada estéril. O tratamento foi realizado seguindo o mesmo método usado para o tratamento das plantas com as células microbianas (item 4.2.3).

4.3.6.1. Proteínas totais

O teor de proteínas totais foi determinado pelo método de Bradford (1976), sendo que para cada amostra se utilizou 6,6 µL de extrato proteico, e 200 µL de reativo Bradford (ACS). O reagente de Bradford foi adicionado às amostras que foram incubadas por 5 minutos, efetuando-se a leitura de absorbância a 595 nm. Cada amostra foi avaliada em triplicata. Para o branco foi utilizada 6,6 µL tampão acetato de sódio 0.1M pH 5,0 e 200µL de reagente Bradford. A absorbância foi plotada em curva padrão para proteínas ($y = 0,3986x + 0,0118$, onde “y” é a absorbância a 595nm e “x” a concentração de proteína (mg)) (Figura 2).

Figura 2. Curva padrão para proteínas.



4.3.6.2. Atividade enzimática

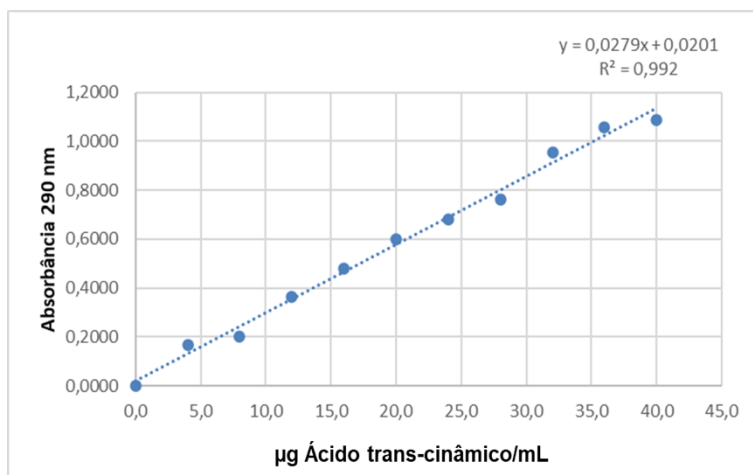
A atividade de peroxidase (POD) foi determinada por método espectrofotométrico, por meio da conversão do guaiacol em tetraguaiacol (LUSSO; PASCHOLATI, 1999). A reação consistiu em 7µl do extrato proteico enzimático e 193µl de solução contendo 250µl de guaiacol e 360µl de peróxido de hidrogênio em 100mL de tampão fosfato de sódio 0.01M pH 6,0. A reação foi realizada a 25°C por 10 minutos, em que houve leituras da unidade de absorbância (470nm) no minuto 0 e no minuto 10. A unidade de atividade de POD foi definida pela mudança de absorbância de 0,01 por minuto a 470nm por mg de proteína total (U/min/mg prot).

A análise de polifenoloxidasas se deu pela mensuração da conversão do catecol em quinona (DUANGMAL; APENTEN, 1999). A reação consistiu em 20µl do extrato proteico enzimático e 180µl de catecol 0.02M dissolvido em tampão fosfato de sódio 0.1M pH 6,8. A reação foi realizada a 30°C por 2 minutos, em que houve leituras da unidade de absorbância (420nm) a cada 10 segundos. O diferencial entre a terceira

e a quinta leitura foi utilizado para a determinação da atividade. A unidade de atividade de PPO foi definida pelo incremento de absorbância de 0,001 por minuto a 420nm por mg de proteína total (U/min/mg prot).

A enzima fenilalanina amônia-liase PAL foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina (UMESHA, 2006). A reação consistiu em 20µl de extrato protéico enzimático, 80µl de solução tampão Tris-HCl 0.025M pH 8,8, 100µl de L-fenilalanina 0.05M dissolvida em tampão Tris-HCl 0.025M pH 8,8. A reação foi incubada a 40°C por 2 horas e, após a esse período, foi acrescentado 20µl de solução HCl 6N para interromper a reação. A absorbância das amostras foi determinada a 290nm, sendo subtraído de cada amostra o valor do controle (20µl de tampão de extração 180µl de solução tampão Tris-HCl 0.025M pH 8,8) A atividade enzimática foi expressa em µg de ácido trans-cinâmico (ácido trans-cinâmico/min/mg de prot.). A absorbância das amostras foi calculada de acordo com a curva padrão para o ácido trans-cinâmico ($y = 0,0303x + 0,0237$, onde “y” é a absorbância a 290nm e “x” a concentração de ácido trans-cinâmico) utilizando uma curva padrão para o ácido (Figura 3).

Figura 3. Curva padrão para ácido trans-cinâmico



4.4. Análise dos dados

O delineamento experimental utilizado no trabalho foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e dez repetições por tratamento. Os dados obtidos foram analisados quanto a normalidade, e quando não atenderam aos critérios, foram submetidos a transformação por Box-Cox a fim de garantir homogeneidade. Posteriormente, foram conduzidas análises de variância e testes

Post-Hoc para determinar as diferenças entre as médias pelo teste de Fisher a 5% de significância. As análises foram realizadas no software StatPlus v.8.

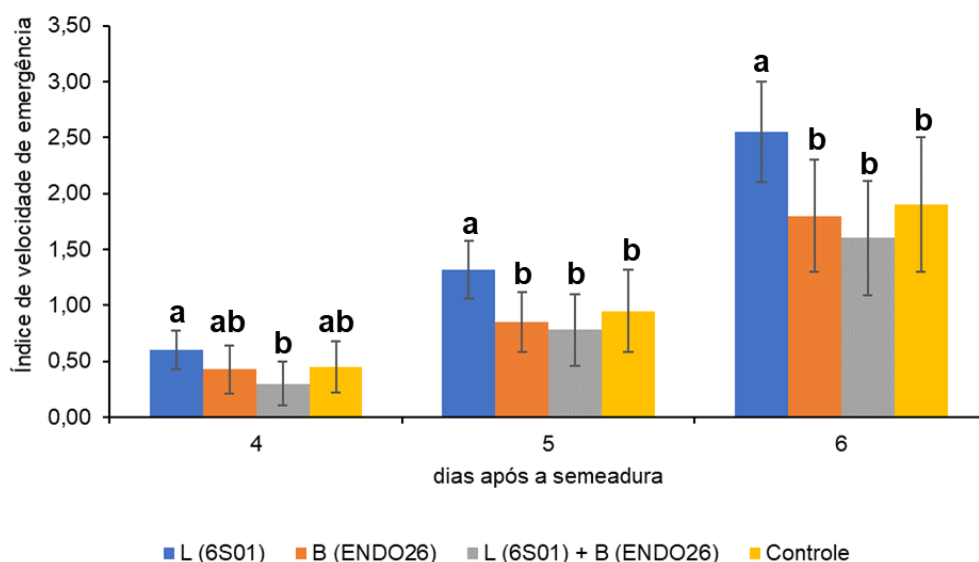
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Emergência das plantas de milho

Os resultados obtidos revelam que as sementes e plântulas tratadas com as células da levedura *T. globosa* (L 6S01) emergiram de forma mais rápida quando comparado com os outros tratamentos. Os resultados podem ser observados no 5º e 6º dias após a semeadura (DAS). A aplicação de células da bactéria *B. subtilis* (ENDO26), por outro lado apresentou resultado inferior ao tratamento com a levedura no primeiro dia de análise (4º DAS), sendo acompanhado pelos outros tratamentos nas análises seguintes (Figura 4).

A aplicação de células de *T. globosa* (linhagem 5S55) em sementes de alface resultou em incremento significativo de produção da cultura no campo das plantas (Cabrini, Sala, Rosa-Magri, 2019).

Figura 4. Índice de velocidade de emergência das plantas de milho durante e após o tratamento com células de levedura (6S01) e/ou bactéria (ENDO26).



Letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Fisher.

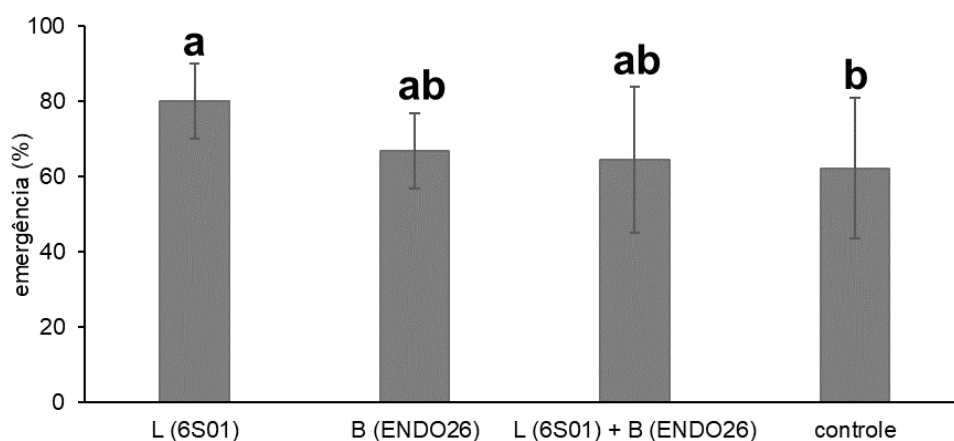
Semelhante ao resultado aqui observado, Buchelt *et al.*, (2019) avaliaram o uso de bioestimulantes e *Bacillus subtilis* em sementes de milho e não encontraram incremento na taxa de germinação da cultura. De Oliveira; Costa e Zucareli (2024)

avaliaram os efeitos da inoculação e co-inoculação com os microrganismos *Azospirillum brasilense*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium* na germinação de sementes e na produção do milho; os autores observaram maior índice de velocidade de emergência (IVE) no tratamento com *T. harzianum* quando comparado com a co-inoculação dos quatro microrganismos. Esse resultado corrobora com o deste trabalho em que a combinação da levedura (6S01) e da bactéria (ENDO26) apresentou menor IVE.

Quanto mais rápida a emergência da planta, menor o tempo desta em condições adversas, susceptível a estresses (MARTINS *et al.*, 1999). Com o desenvolvimento dos estádios iniciais da planta ocorrendo em menor tempo há maior aproveitamento da luz, água e nutrientes, com o início antecipado do processo fotossintético, favorecendo o crescimento da planta (MARTINS *et al.*, 1999; PANOZZO *et al.*, 2009). A importância da germinação e a emergência das plântulas de fato são essenciais para obter uma ótima safra e altos rendimentos (MILJAKOVIĆ *et al.*, 2024). Illa *et al.* (2020) avaliaram a inoculação de *Trichoderma harzianum* (CT306) e *Bacillus subtilis* (CT104) em plantas de amendoim em ensaios de campo, seja separadamente ou em combinação, e observou melhora na emergência e no crescimento das plantas, e isso refletiu em um maior rendimento de vagens e grãos, bem como em um aumento na proporção de grãos de maior tamanho.

Os resultados obtidos para o número total de plantas emergidas ao fim da análise (6º DAS), mostram que o tratamento com células da levedura (6S01) proporcionou a emergência de um número significativamente superior de plantas se comparado ao tratamento controle (Figura 5).

Figura 5. Porcentagem final de emergência das plantas de milho.



Letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Fisher.

Com a análise da emergência das plantas, sem dúvida, podemos verificar que o tratamento das sementes e plântulas com a levedura (6S01) trouxe um benefício significativo para a emergência mais rápida das plantas e para o número maior de plantas emergidas, se comparado às plantas inoculadas com a bactéria ou não inoculadas. O tratamento de sementes com bactérias, porém, tem sido observado em diversos estudos como sendo benéfico em proporcionar maior taxa de germinação e emergência das plantas. Custódio *et al.*, (2013) estudaram o efeito da inoculação de sementes de feijão com *Bacillus subtilis*, e observaram incremento das plântulas de feijão com a inoculação da bactéria, tanto em ensaios no laboratório como em casa-de-vegetação. De Oliveira; Costa e Zucareli (2024) obtiveram um incremento de 33% na taxa de germinação com a co-inoculação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* + *B. megaterium*) na cultura de milho. Annadurai *et al.*, (2020), avaliaram a resposta da co-inoculação da levedura endofítica *Candida tropicalis* (VYW1) e da bactéria *Rhizobium sp.* (VRE1) em sementes de feijão-mungo (*Vigna mungo L.*) e observaram aumento significativo da porcentagem de germinação. Miljaković *et al.*, (2024) observaram que os tratamentos de sementes de ervilha com a bactéria *B. subtilis* e com a co-inoculação *B. subtilis* + *B. amyloliquefaciens* aumentaram de forma significativa a porcentagem de germinação da cultura.

As diferentes respostas obtidas na emergência das plantas quando inoculadas com microrganismos são observadas com frequência, e os motivos principais citados para isso é a dificuldade do estabelecimento do microrganismo inoculado na semente e na plântula, e sua capacidade em promover benefícios ao vegetal na condição de casa-de-vegetação ou campo. Apesar disso, O'Callaghan, (2016) menciona que, do ponto de vista agrônomo, a introdução de microrganismos benéficos nas sementes e na rizosfera das plantas pode ser um método eficiente de inoculação microbiana do solo, possibilitando maior chance da colonização destes nas raízes das plantas.

5.2. Desenvolvimento Vegetal

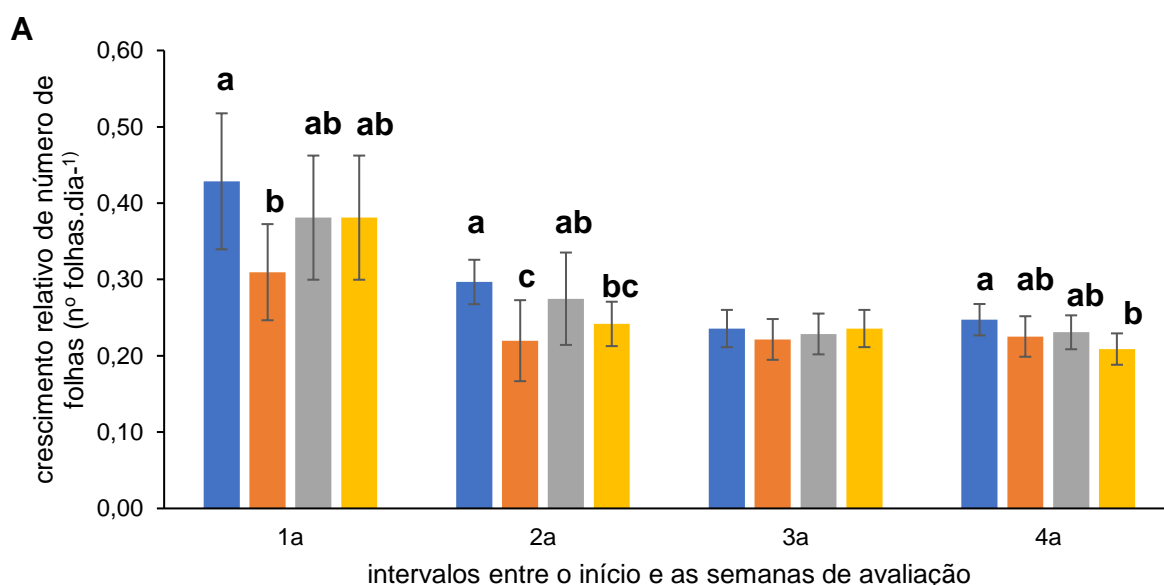
5.2.1. Número de folhas

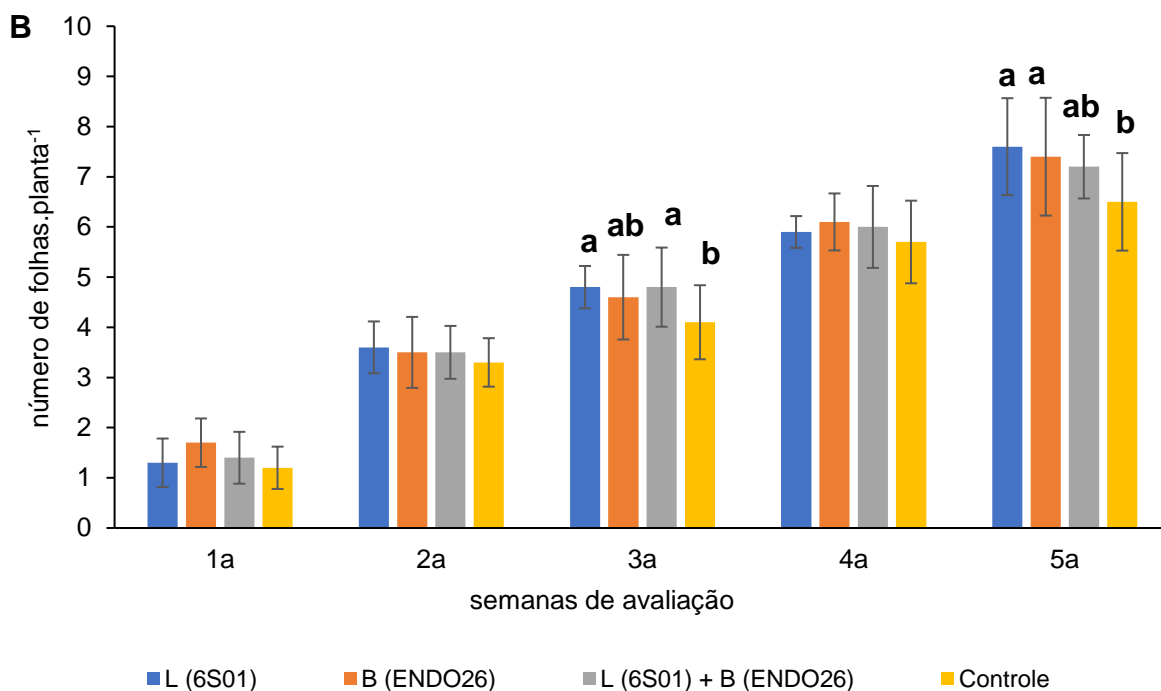
Os dados obtidos para o crescimento relativo de número de folhas mostram que, para a primeira e segunda semanas, as plantas inoculadas com células da levedura

T. globosa (6S01) tiveram melhor resultado, e que as plantas tratadas com células da bactéria *B. subtilis* (ENDO26) tiveram o menor crescimento relativo. Na terceira semana, porém, o crescimento não apresenta diferença entre os tratamentos, sendo que as plantas tratadas com a levedura (6S01) apresentaram crescimento superior do número de folhas se comparado ao tratamento controle na quarta e última semana de análise (Figura 6-A). Tavares *et al.*, (2019) mencionam que o aumento no número de folhas é desejável, devido a maior área fotossintética e, conseqüente elevação do potencial produtivo da cultura. O número de folhas é usado no milho como forma de identificar seus estádios de desenvolvimento, sendo que podemos afirmar que o tratamento com células da levedura (6S01) promoveu um avanço no desenvolvimento vegetal, se comparado com os outros tratamentos.

Para a variável número total de folhas para os diferentes tratamentos observamos que na 3ª semana de experimento os tratamentos com levedura e da co-inoculação levedura + bactéria apresentaram número de folhas maior do que o tratamento controle. Diferente resultado, porém, foi observado na 5ª semana de análise, sendo que os tratamentos com levedura e bactéria aplicados isoladamente foram os que proporcionaram plantas com maior número de folhas, com resultado superior ao tratamento controle (Figura 6-B).

Figura 6. Crescimento relativo do número de folhas (A) e número médio de folhas (B) das plantas de milho submetidas aos tratamentos de inoculação com a levedura (6S01) e/ou bactéria (ENDO26).





Letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Fisher.

Um desenvolvimento mais vigoroso das folhas desde o início do cultivo pode aumentar a capacidade fotossintética da planta, o que pode refletir na produção e no rendimento de forma mais eficiente. Isso fortalece a validade de nossos resultados, uma vez que demonstramos que o efeito do microrganismo persiste em várias etapas do desenvolvimento da planta. O aumento do número de folhas em plantas inoculadas por microrganismos já foi observado em outras culturas. Domingues *et al.*, (2021) avaliaram a eficiência da utilização de linhagens microbianas de *Trichoderma atroviride*, *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* em alface de duas cultivares (Mediterrânea e Solaris), e os resultados mostraram que a inoculação das plantas promoveu aumento significativo de número de folhas, se comparado ao tratamento não inoculado. Araujo *et al.*, (2020) estudaram a inoculação do fungo rizosférico *Aspergillus niger* sobre mudas de café em viveiro e após o transplante para o campo, sendo que a inoculação do fungo promoveu incremento significativo no número de folhas das mudas durante o período de avaliação.

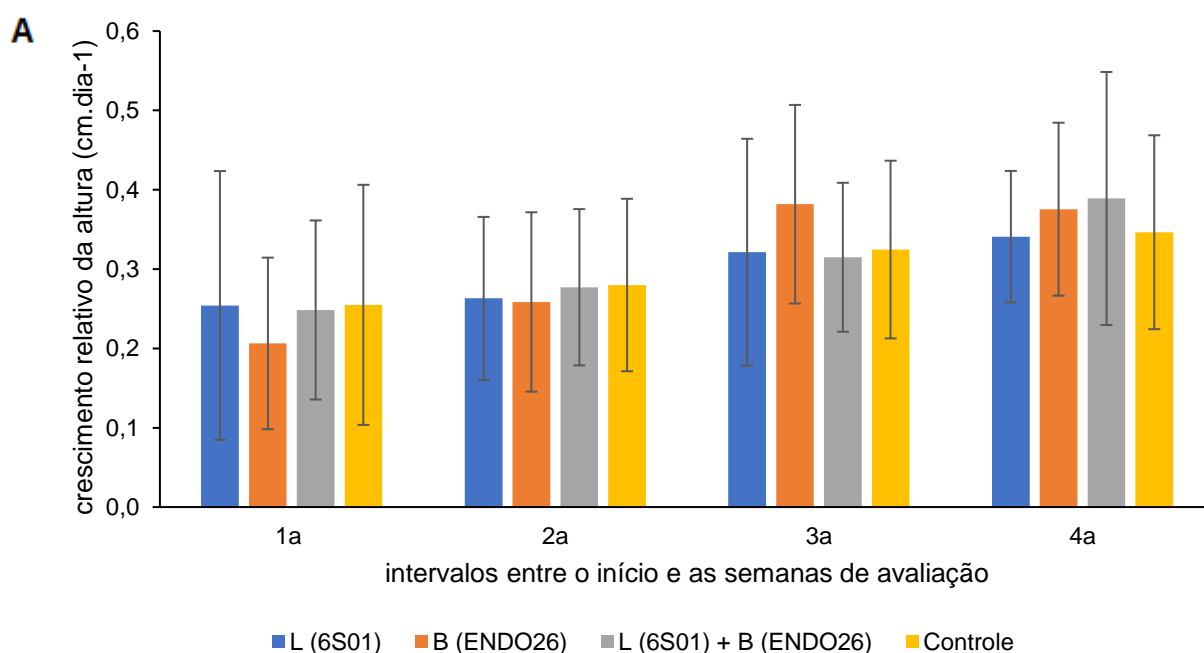
5.2.2. Altura da planta

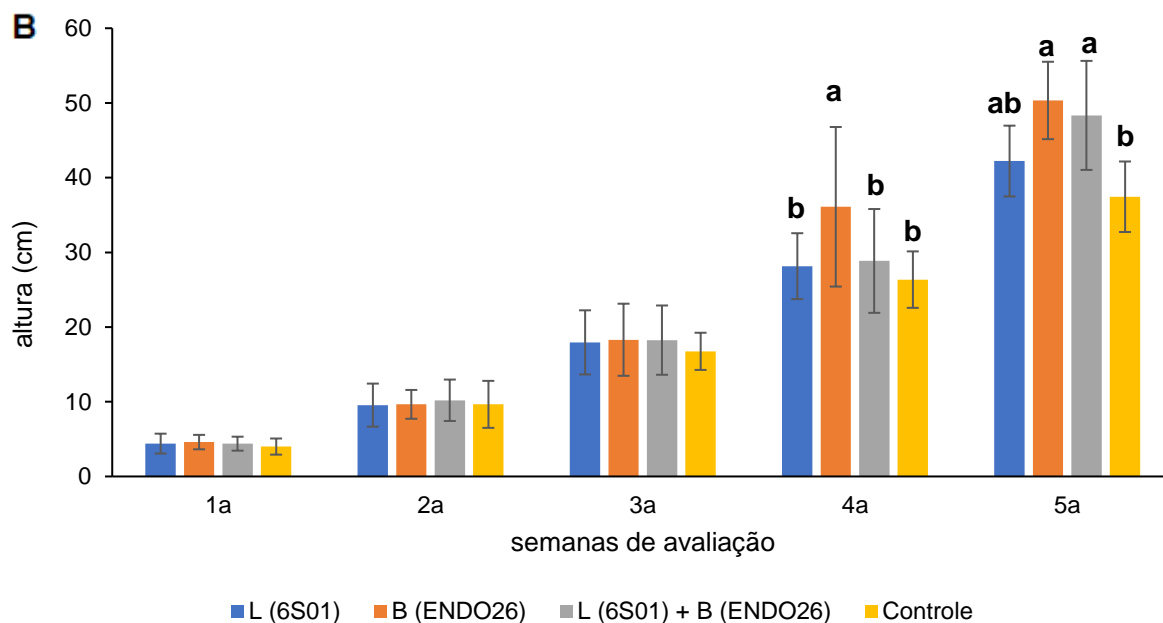
Para o crescimento relativo das plantas quanto à altura não foi observada diferença entre os tratamentos, isto é, a inoculação das plantas não favoreceu a

velocidade do crescimento das plantas em altura entre as semanas de análise (Figura7-A).

Quando são analisadas as medidas de altura das plantas, porém, é possível observar que a partir da 4ª semana de análise as plantas tratadas com as células da bactéria (ENDO26) apresentaram maior altura do que as plantas que receberam os outros tratamentos. Na 5ª semana as plantas dos tratamentos que receberam a aplicação da bactéria, de forma isolada ou co-inoculada com a levedura, apresentaram maior altura que o controle (sem inoculação) (Figura7-B)

Figura 7. Taxa de crescimento relativo (A) e valores médios (B) da altura das plantas de milho submetidas aos tratamentos de inoculação com a levedura (6S01) e/ou bactéria (ENDO26).





Letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Fisher.

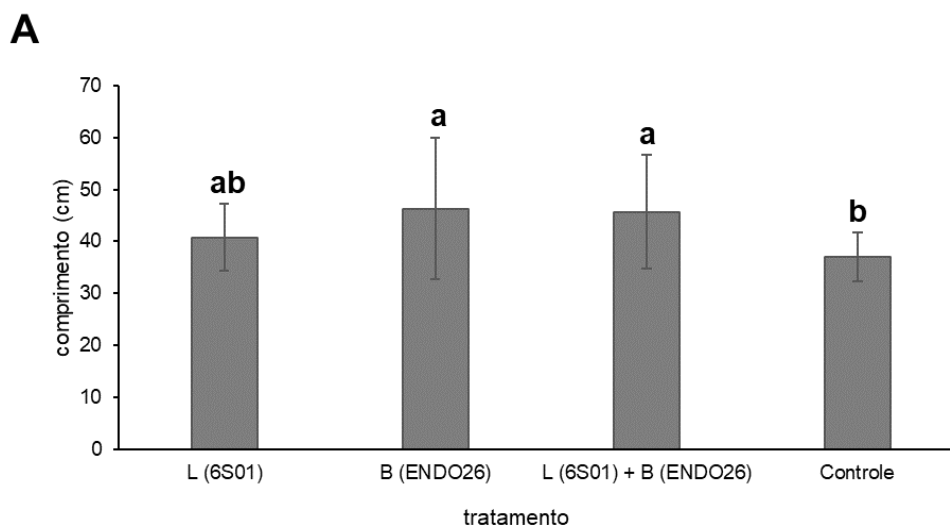
Machado *et al.*, (2020) avaliaram a inoculação foliar de plantas de milho com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*, e os autores observaram que para a variável altura, as plantas inoculadas com *B. subtilis* apresentaram diferenças significativas em relação aos demais tratamentos. O aumento significativo de altura da planta com a inoculação de *B. subtilis*, está relacionado com as diferentes atividades que desempenha o microrganismo, como a solubilização de nutrientes, a produção de metabolitos de ação bactericida e fúngica, e a produção de fito hormônios (HASHEM *et al.*, 2019; MUMTAZ *et al.*, 2017).

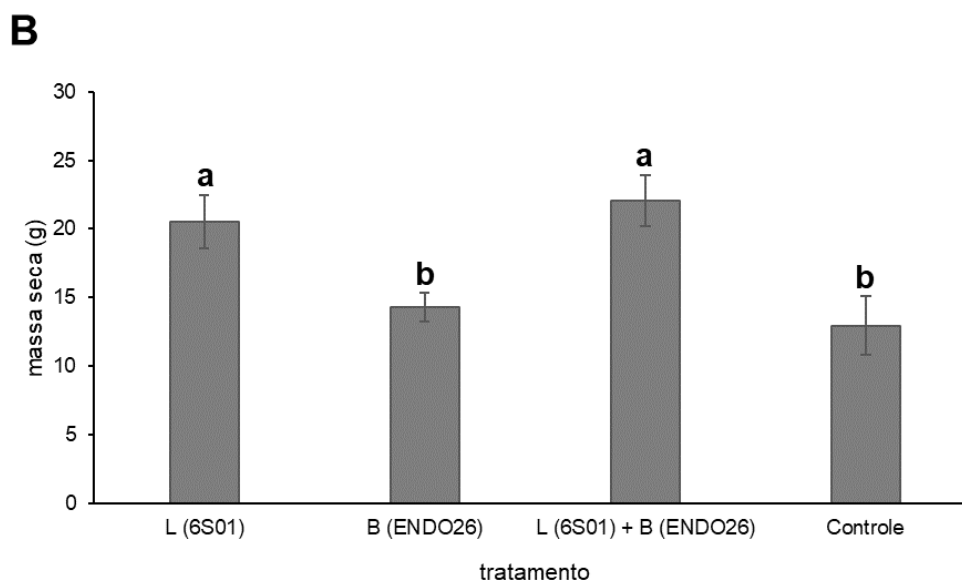
Lima *et al.*, (2011) avaliaram o efeito da inoculação de *B. subtilis* e da adubação nitrogenada na produtividade do milho. A inoculação foi realizada via foliar, e da mesma forma observaram que o *B. subtilis* tem benefícios no incremento da altura da planta do milho. O mesmo resultado foi obtido por Ferreira *et al.*, (2018) que também observaram incrementos na altura das plantas inoculadas com o *B. subtilis*. Costa *et al.*, (2019) estudaram o efeito de diferentes concentrações de inoculantes a base de *B. subtilis* no desenvolvimento inicial da cultura soja de duas variedades (TMG132 e M8210), e os resultados indicaram incremento na altura de plantas aos 30 dias após a semeadura para o cultivar M8210. Esse achado concorda com os resultados aqui apresentados, nos quais foram observadas diferenças significativas com a inoculação da bactéria (ENDO26), na quarta semana de avaliação em relação aos demais tratamentos.

5.2.3. Comprimento e massa seca da planta

Quando tratadas com células de bactéria (ENDO26) as plantas apresentaram maior altura ao fim do experimento (Figura 8-A), porém com menor massa seca (Figura 8-B). O inverso podemos verificar para as plantas tratadas com células de levedura (6S01), que apresentaram plantas com menor altura (Figura 8-A), porém maior massa seca (Figura 8-B). Essa maior massa seca da parte aérea proporcionada pela inoculação das células de levedura não pode ser explicada pelo número maior de folhas, pois como foi relatado anteriormente, não houve diferença entre os tratamentos com levedura e com bactéria para número de folhas por planta ao fim do experimento (5ª semana de avaliação) (Figura 6-B). Variáveis não analisadas, como maior área foliar e/ou diâmetro do colmo das plantas tratadas com a levedura, podem explicar a maior massa seca de parte aérea obtida para este tratamento.

Figura 8. Comprimento (A) e massa seca da parte aérea (B) de plantas de milho ao fim dos 35 dias de experimento, após serem submetidas aos tratamentos de inoculação.





Letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Fisher.

Silva *et al.*, (2022) estudaram a inoculação de linhagens de *Paecilomyces sp.*, *Trichoderma asperellum*, *Bacillus subtilis* e *Pochonia sp.* na cultura da soja, e observaram que a co-inoculação de *Paecilomyces sp.* e *Bacillus subtilis*, bem como a combinação de todos os microrganismos, resultou em médias superiores de altura da planta, massa fresca e seca da parte aérea em comparação com o tratamento de controle. Um estudo realizado por Mazzuchelli *et al.*, (2014) verificaram que plantas de milho co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* apresentaram maior altura de plantas em relação ao controle. De forma semelhante aos estudos supracitados, os resultados aqui obtidos mostram que as plantas co-inoculadas com a levedura (6S01) e a bactéria (ENDO26) apresentaram maior altura e massa seca da parte aérea, em relação ao controle.

Millán *et al.*, (2020) avaliaram o potencial de uma coleção de 69 cepas de leveduras isoladas de vinhedos espanhóis, para promoção de crescimento de plantas de milho, em condição controlada; os resultados mostraram que três linhagens de levedura promoveram incremento de massa seca, porém sem alteração significativa para a altura das plantas. O mesmo resultado foi observado aqui, sendo que o tratamento da levedura (6S01) promoveu maior massa seca, porém o mesmo não foi observado para altura.

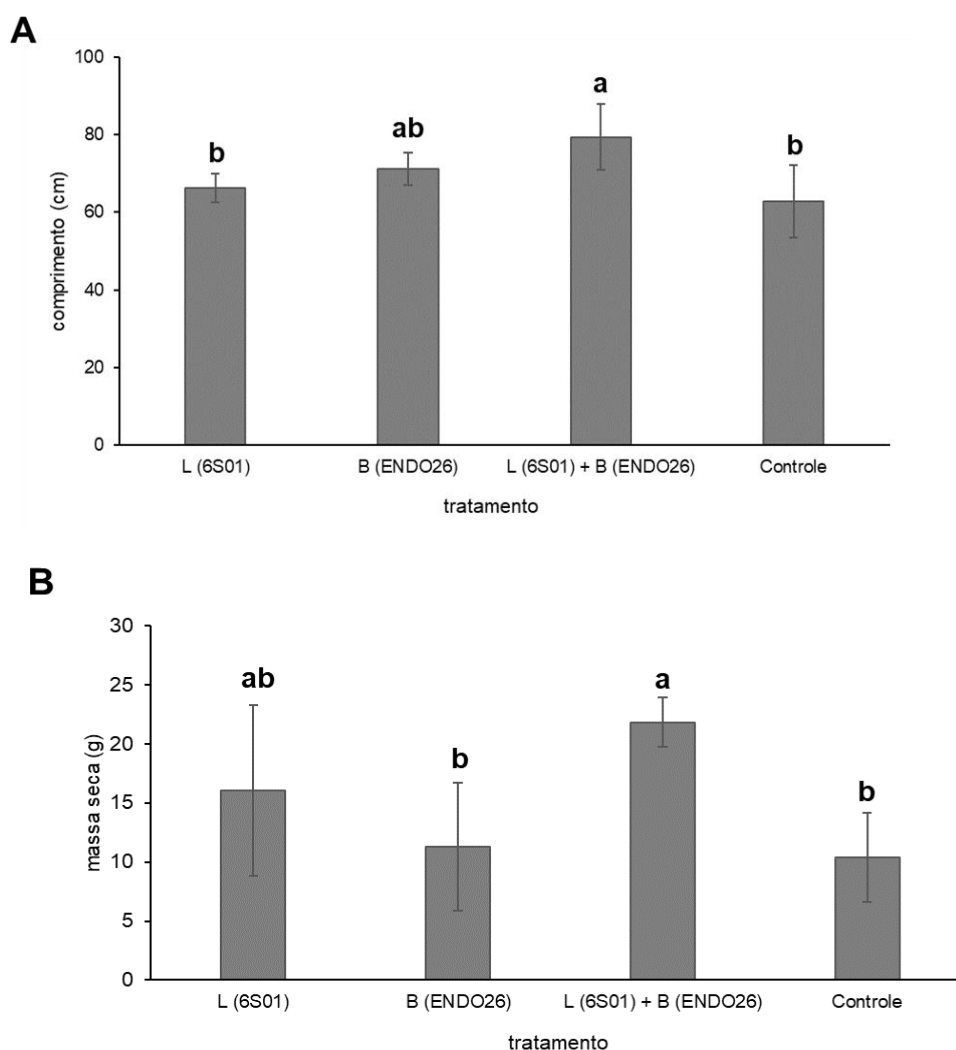
O melhor resultado observado foi obtido com a co-inoculação (levedura+bactéria), que resultou em plantas mais altas e com maior massa seca. O resultado pode ser explicado devido o fato de que a combinação de dois microrganismos resulta na ação de diferentes mecanismos de promoção de crescimento, ou na redundância destes, aumentando as chances de promoção de crescimento das plantas. Os microrganismos aqui estudados, em estudos preliminares *in vitro*, mostraram serem capazes de produzir ácido indolacético (AIA), solubilizar minerais, controlar fitopatógenos e induzir resistência sistêmica. Albertini *et al.*, (2022) avaliou as condições *in vitro* para a levedura *T. globosa* (6S01) produzir AIA, a qual alcançou a produção de 400 µg/mL em 24 horas de cultivo em meio de cultura, o que mostra que a linhagem é promissora para ser usada na promoção de crescimento vegetal. No mesmo trabalho foi observado que a linhagem é capaz de solubilizar fosfato tricalcicum sob diferentes condições (fontes nutricionais, pH, temperatura e oxigênio), indicando ser uma linhagem robusta para esta função. A bactéria *B. subtilis* (ENDO26) foi isolada de raiz de cana-de-açúcar, e foi selecionada por sua capacidade de produzir AIA, solubilizar P e controlar fitopatógenos em condições *in vitro*.

De Oliveira; Costa e Zucareli (2024) avaliaram os efeitos da inoculação e co-inoculação com os microrganismos *Azospirillum brasilense*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, e *Bacillus megaterium* na germinação de sementes e produção do milho; para a variável comprimento de parte aérea, tiveram maiores valores com a inoculação de *B. subtilis* e *B. megaterium* e com a co-inoculação de *A. brasilense* + *B. subtilis* e *B. megaterium*. É possível concluir pelos trabalhos citados que a co-inoculação de microrganismos é uma prática amplamente benéfica, sendo uma abordagem adotada pela indústria por meio de produtos biológicos comerciais que incluem mais de uma linhagem ou espécie de microrganismo. É possível encontrar exemplos de combinação entre espécies de mesmo grupo microbiano (diferentes bactérias), como a aplicação de microrganismos de grupos diferentes (bactérias e fungos). No entanto, é essencial investigar cuidadosamente a sinergia entre as linhagens para evitar possíveis efeitos negativos para o desenvolvimento das plantas.

Os dados obtidos para comprimento e massa seca das raízes das plantas de milho reforçam o resultado positivo da co-inoculação (levedura+bactéria) para o desenvolvimento vegetal, sendo que as plantas deste tratamento apresentaram, para

as duas variáveis, valores significativamente superiores ao tratamento controle (Figura 9).

Figura 9. Comprimento de raiz (A) e massa seca das raízes (B) de plantas de milho ao fim de 35 dias de experimento, após serem submetidas aos tratamentos de inoculação.



Letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Fisher.

No estudo de campo realizado por De la Paz *et al.*, (2022) foram avaliadas duas cepas nativas de *B. subtilis* e *B. amyloquefaciens* no cultivo de milho forrageiro; os resultados mostraram que, após 115 dias da inoculação, o tratamento com *B. subtilis* demonstrou um aumento significativo na massa seca das raízes. Por outro lado, Chagas *et al.*, (2017) estudaram o *B. subtilis* e *Trichoderma sp.* no incremento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz. As avaliações foram aos 20

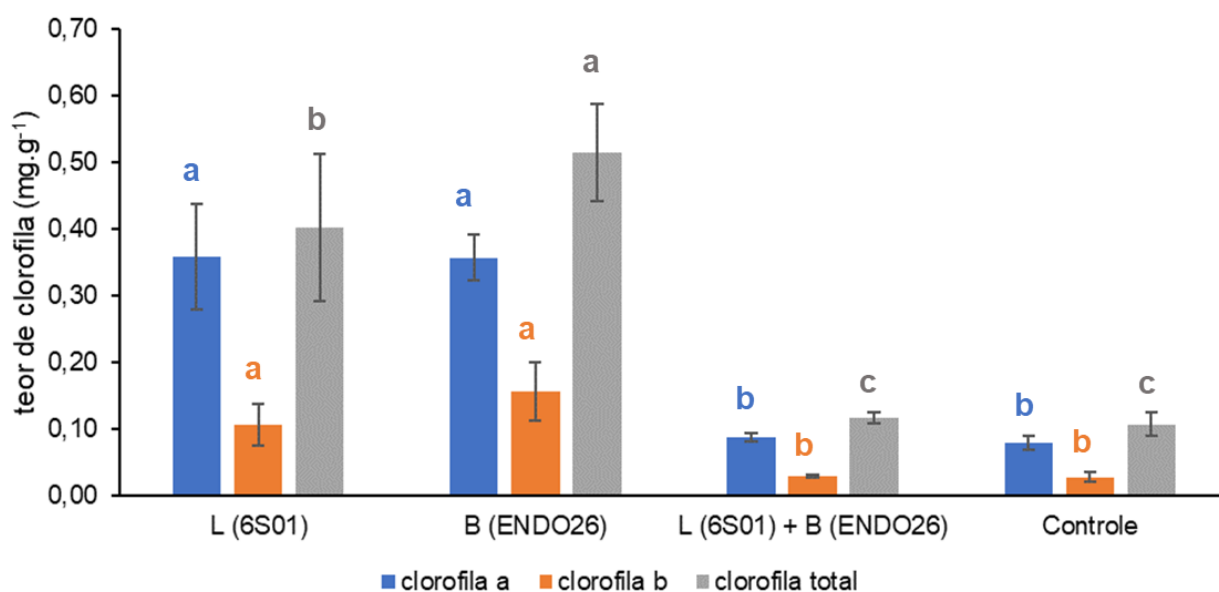
e 40 dias após a emergência das plantas (DAE); para massa seca da raiz de milho obtiveram resultados estatisticamente superiores apenas aos 40 DAE, com as inoculações isoladas dos microrganismos, com resultados superiores em comparação com a sua co-inoculação. Esses dados diferem dos obtidos neste estudo, sendo que a inoculação isolada da bactéria *B. subtilis* (ENDO26) nas plantas de milho proporcionou menor massa seca de raiz, resultado inferior à co-inoculação, e semelhante ao tratamento controle (Figura 8-B).

Polli De Oliveira; Borsoi; De Souza Waligura, (2022) avaliaram a inoculação de microrganismos isolados e combinados aplicados via solo na cultura da soja: *Bradyrhizobium japonicum*; *B. japonicum* + *Azospirillum brasiliense*; *B. japonicum* + *A. brasiliense* + *Trichoderma harzianum*; *B. japonicum* + *A. brasiliense* + *T. harzianum* + *B. amyloliquefaciens* e *B. japonicum* + *A. brasiliense* + *T. harzianum* + *B. amyloliquefaciens* + *B. subtilis* e *B. megaterium*; para a variável de comprimento de raiz não foram observadas diferenças significativas em relação ao tratamento controle. Esses resultados não concordam com o nosso estudo, onde o tratamento com a co-inoculação proporcionou plantas com maior comprimento de raiz em relação ao controle. É importante destacar que a formação das raízes é fundamental para o desenvolvimento das plantas, pois é o órgão responsável pela absorção de água e nutrientes do solo, além de serem o suporte da planta. Também é relevante notar que, através das raízes ocorrem as relações simbióticas entre os microrganismos do solo e a planta, relações estas muito importantes para a resistência da planta contra estresses (MAGALHÃES; NEGRI; SOUSA, 2013).

5.3. Teor de clorofila

Para a variável teor de clorofila é possível observar que as plantas tratadas com a bactéria (ENDO26) e a levedura (6S01), de forma isolada, apresentaram os maiores valores, enquanto as que receberam a co-inoculação (levedura+bactéria) apresentaram teores significativamente menores, semelhante ao observado no tratamento controle (Figura 10).

Figura 10. Teor de clorofila das folhas de milho ao fim de 35 dias de experimento, após serem submetidas aos tratamentos de inoculação.



*letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey, entre os grupos de clorofila analisados.

Millán *et al.*, (2020) estudaram a inoculação de leveduras em plantas de milho, e observaram que a inoculação isolada de três linhagens proporcionou aumento de 10% no teor de clorofila, em relação ao tratamento controle. O mesmo resultado foi observado neste trabalho, no qual a inoculação com a linhagem 6S01 promoveu plantas com teor de clorofila superior ao tratamento controle. Costa *et al.*, (2019) estudaram o efeito de diferentes concentrações de inoculantes a base de *Bacillus subtilis* no desenvolvimento inicial da cultura soja, e os resultados indicaram aumento do teor de clorofila das folhas de duas variedades testadas, com aumento das doses de *Bacillus subtilis*, havendo um efeito significativo nos três períodos de avaliação. Diferente do que observamos aqui, em um estudo realizado por Annadurai *et al.*, (2020), a co-inoculação de feijão mungo com a levedura *Candida tropicalis* (VYW1) a bactéria *Rhizobium sp.* (VRE1) promoveu maior teor de clorofila em relação a inoculação isolada. Fornari *et al.*, (2020) mencionam que o índice da clorofila seja a, b ou total são reportados como positivamente relacionados com a produtividade do milho, na produção dos grãos e biomassa e sua relação com fotossíntese e consequentemente a produção dos fotoassimilados (PONTE FILHO *et al.*, 2023).

Gándara Ledezma; Gutiérrez Coronado, (2023), estudaram o efeito de microrganismos promotores de crescimento vegetal e gesso agrícola no cultivo de figos. Foram aplicados três tratamentos: controle, consórcio bacteriano (*B. subtilis*, *B. cereus* e *Pseudomonas fluorescens*) e *Trichoderma harzianum* com gesso agrícola. Eles observaram as árvores tratadas com consórcio bacteriano e *T. harzianum* com gesso agrícola, um incremento do teor de clorofila em comparação com o controle. Nos estudos encontrados, a presença de múltiplos microrganismos promoveu, interações que são sinérgicas, que resultam melhorias no desempenho da planta incluindo no teor de clorofila. Porém é muito importante tomar em conta que os efeitos da co-inoculação, podem variar dependendo das espécies, as culturas e as condições ambientais envolvidas. Neste trabalho observamos que a co-inoculação de levedura (6S01) + bactéria (ENDO26) apresentaram menor teor de clorofila, em comparação com a inoculação individual dos microrganismos.

5.4. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e solubilizadores de P

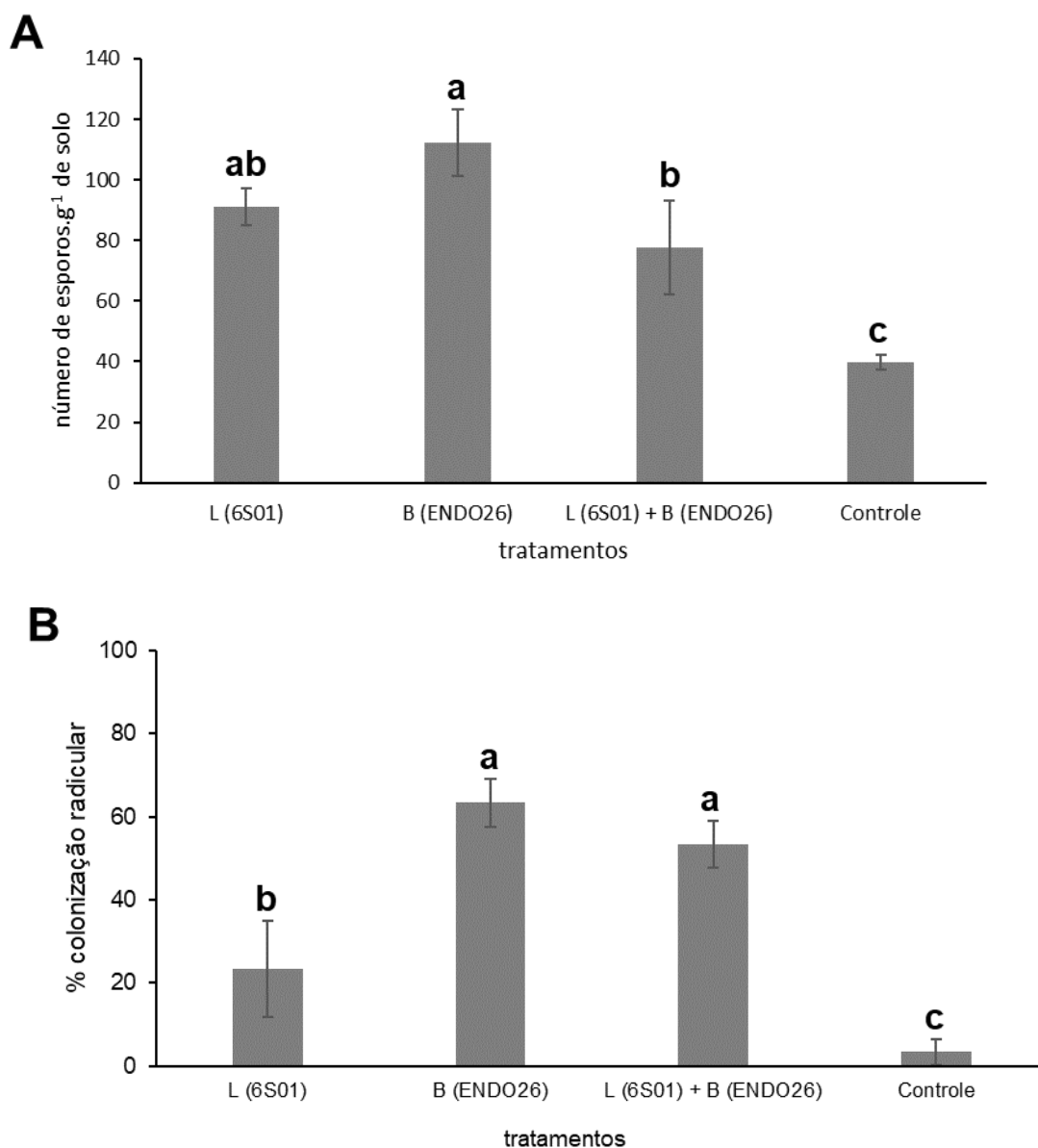
Os resultados da quantificação do número de esporos de FMA nos solos sob cultivo de milho mostraram que aqueles que receberam a inoculação com a bactéria (ENDO26) e a levedura (6S01), isoladamente, apresentaram as maiores médias, seguidas do tratamento com a co-inoculação. Todos os tratamentos com inoculação apresentaram resultados superiores ao tratamento controle (Figura 11-A).

Para a colonização dos FMA nas raízes, as plantas que receberam as células da bactéria (ENDO26), seja ela de forma isolada ou co-inoculada com a levedura foram as que apresentaram melhores resultados. O tratamento com a levedura (6S01) isoladamente apresentou resultado inferior, porém superior ao tratamento controle (Figura 11-B).

Na literatura é grande o número de trabalhos mostrando interação positiva de bactérias promotoras de crescimento e fungos micorrízicos, com incremento ao desenvolvimento vegetal. Contrera *et al.*, (2022) investigaram o efeito individual e combinado de *Bacillus subtilis* e do fungo micorrízico *Glomus intraradices* no crescimento e na qualidade pós-colheita das hastes de *Lisianthus var.*, uma espécie ornamental, sendo que o número de folhas foi superior quando a dupla inoculação foi realizada; os autores concluem que esse incremento pode estar relacionado a uma maior absorção de macro e micronutrientes facilitada pela simbiose entre as bactéria

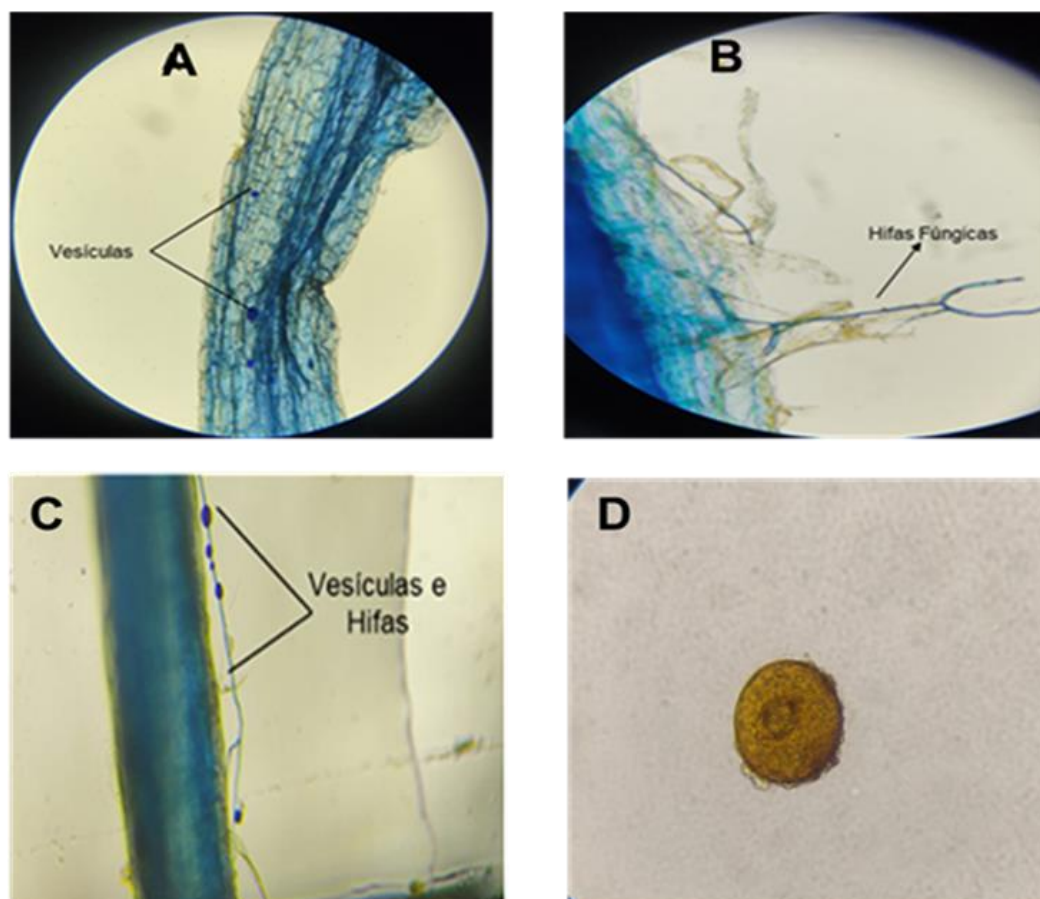
e o fungo micorrízico, o que, por sua vez, promoveu um maior desenvolvimento das plantas.

Figura 11. Número de esporos de FMA no solo (A) e colonização micorrízica de raízes de milho (B) em amostras submetidas às inoculações com a levedura (6S01) e/ou bactéria (ENDO26).



Letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Fisher.

Figura 12. Estruturas dos FMA observadas em esporos de solo e fragmentos de raízes de milho avaliadas. A- Detalhe das vesículas; B – hifas fúngicas externas às raízes, C – hifas fúngicas e vesículas; D- esporos no solo.



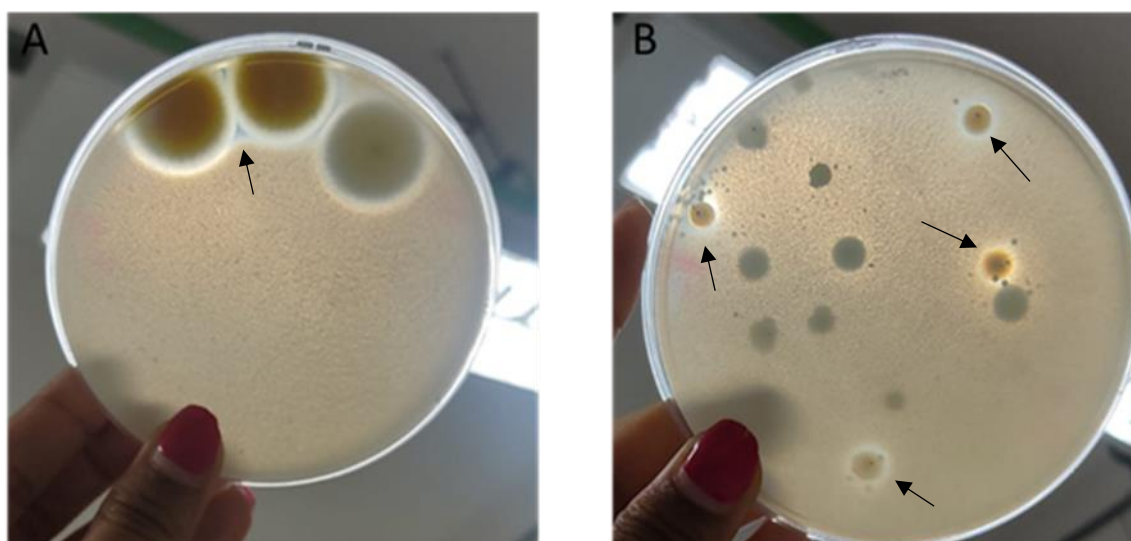
Zaidi *et al.*, (2009) mostraram que *B. subtilis* está diretamente envolvido na solubilização de fósforo. Além disso, Kohler *et al.*, (2007) mostraram que existe um sinergismo entre *B. subtilis* e os FMA. Os FMA têm uma associação simbiótica com a maioria das plantas, auxiliando na nutrição com fósforo e protegendo contra estresses bióticos e abióticos (NANJUNDAPPA *et al.*, 2019). A inoculação de microrganismos no solo/rizosfera ajuda a melhorar a saúde geral da planta e sua capacidade de realizar suas funções fisiológicas aproveitando ao máximo seu potencial (BERENDSEN *et al.*, 2012). Mohamed *et al.*, (2019) estudaram a parceria de rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPR) e micorrizas para melhorar o crescimento e a utilização de nutrientes por plantas de feijão comum em um solo infectado com fungos de podridão branca. Mostraram que as inoculações individuais com FMA ou bactérias melhoram a absorção de P; também observaram que as

inoculações combinadas proporcionaram aumentos significativos na absorção de P pelas plantas.

Estudos realizados recentemente demonstraram que os efeitos benéficos de endofíticos ao colonizar as plantas podem ser melhorados pela co-inoculação com outros microrganismos, aumentando o crescimento e o rendimento para fornecer a nutrição equilibrada para a planta (FIRDOUS *et al.*, 2019). Rodrigues *et al.*, (2022) investigaram a combinação de cepas de *Bacillus* e *Azospirillum* e doses de P sobre a taxa de colonização micorrízica e o desenvolvimento foliar do milho; os autores observaram que a co-inoculação de *Bacillus* com *Azospirillum* promoveu um aumento significativo da colonização por FMA. Esses achados indicam que a co-inoculação não apenas aprimora a disponibilização de nutrientes, mas também cria um ambiente propício para os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Esses achados estão em concordância com este trabalho, no qual observamos que a inoculação das plantas promoveu significativo aumento da colonização das raízes por FMA. Esse processo pode ser benéfico para planta, como foi possível observar, houve a promoção do crescimento das plantas. Esses dados indicam que, dentre os potenciais benefícios, a redução de fertilizantes minerais seria um, o que seria benéfico tanto para a produção agrícola quanto para os agricultores.

A quantificação de UFC de solubilizadores de fósforo cultiváveis das amostras de solo não mostrou diferença significativa entre os tratamentos. Os dados obtidos mostraram grande variação no número de UFC entre as repetições dentro dos tratamentos, indicando heterogeneidade desse grupo microbiano nas amostras avaliadas. Com esse resultado podemos concluir que, diferente do que foi observado para os FMA, os tratamentos das plantas com células de levedura e/ou bactéria não afetaram de forma significativa a presença dos solubilizadores cultiváveis no solo.

Figura 13. Formação de halo de solubilização de fosfato inorgânico (seta) por colônia de fungos filamentosos (A) e bactérias (B), em meio BDYA.



O fósforo no solo poder estar quimicamente fixado com outros cátions metálicos geralmente a sua disponibilidade é limitada. As características mais valorizadas dos microrganismos que promovem crescimento vegetal é sua capacidade de solubilizar o fósforo, tornando-o disponível para ser absorvido pelas plantas (SHARMA *et al.*, 2013).

Oliveira *et al.*, (2019) mencionam que as duas cepas de *T. globosa* (5S51 e 5S55), foram capazes de solubilizar fosfato, demonstrado pela formação de halo de solubilização em meio sólido. Albertini *et al.*, (2022) realizaram o isolamento de leveduras de solo sob o cultivo de milho, e dentre os isolados selecionaram a linhagem 6S01, usada neste trabalho, por ser produtora de AIA e solubilizadora de P. Bezerra *et al.*, (2022) que realizaram o isolamento de bactérias promotoras de crescimento de plantas de cana-de açúcar, obteve a linhagem ENDO26, usada neste trabalho, a qual foi selecionada, dentre outros mecanismos, a capacidade de solubilizar P *in vitro*.

5.5. Enzimas antioxidantes

A análise estatística realizada sobre a atividade das enzimas peroxidase (PO) (Figura 14-A), polifenoloxidase (PPO) (Figura 14-B) e fenilalanina amônia-liase (PAL) (Figura 14-C), revelou ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. A aplicação do teste F não demonstrou discrepâncias significativas entre

as médias dos tratamentos, sugerindo uma uniformidade nos efeitos das diferentes condições testadas.

A ausência de diferença entre os tratamentos pode ser justificada pelo fato de que as plantas não sofreram estresses, sejam eles bióticos ou abióticos, durante o período de avaliação. Apesar dos tratamentos com possíveis indutores de resistência (AAS e os microrganismos), a produção de enzima é observada de forma mais significativa quando a planta é submetida a situações estressantes, sejam elas ambientais (alterações de temperatura, estresse hídrico, salinidade, contato com metais pesados etc.) ou o ataque de pragas e fitopatógenos.

Peroxidases são responsáveis por catalisar a oxidação de compostos orgânicos, sendo uma enzima chave nas plantas por desempenhar diversas funções, como a formação de ligações em polissacarídeos, a oxidação do ácido indolacético, a ligação de monômeros, a lignificação, a cicatrização de ferimentos, a oxidação de fenóis, a defesa contra patógenos, a regulação do crescimento celular, entre outras atividades. (CAMPOS; SILVEIRA, 2003; (DINIZ CAMPOS; MARIETE DA LUZ SILVEIRA, 2003). A atividade das peroxidases na planta tende a aumentar em resposta a estresses (RESENDE *et al.*, 2003). Campos *et al.*, (2004) investigaram a atividade de peroxidase e polifenoloxidase em cultivares de feijão pulverizados com ácido acetil salicílico (AAS), um indutor químico de resistência vegetal, e microrganismos indutores, constatando um aumento na atividade dessas enzimas após a inoculação de patógenos. De acordo com os autores, a atividade dessas enzimas está associada a vários processos do sistema de defesa das plantas, como a resposta hipersensível, a lignificação e a ação antimicrobiana.

Aguiar (2016) menciona que além das rizobactérias, as leveduras, como a *Saccharomyces cerevisiae*, mostraram uma eficácia na indução da resistência contra infecções causadas por *Xanthomonas gardneri* em tomateiros. Mohamed *et al.*, (2019) estudaram a parceria de rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPR) e micorrizas para melhorar o crescimento e a utilização de nutrientes por plantas de feijão comum em um solo infectado com fungos de podridão branca; a combinação de todos os biotratamentos, ou seja, *B. subtilis*, *B. subtilis* + FMA, *P. fluorescens*, *P. fluorescens* + FMA e FMA possui um efeito positivo com o aumento na atividade da enzima peroxidase, reduzindo a infecção por *Sclerotium rolfsii* e mostrando significativa capacidade dos microrganismos como bioagentes de controle de doenças, em comparação com o tratamento controle ou até mesmo com o de

fungicida. Marques *et al.*, (2012) estudaram enzimas indicadoras do estado de indução de resistência em genótipos de soja submetidos à deficiência de potássio; acompanhando a atividade de PO nas plantas, observaram que é possível manter a atividade da enzima crescente, em taxas maiores nos estádios vegetativos da soja, em V5 e V7, em situação de sub estresse

Figura 14 A. Atividade da enzima peroxidase nos extratos vegetais de plantas de milho.

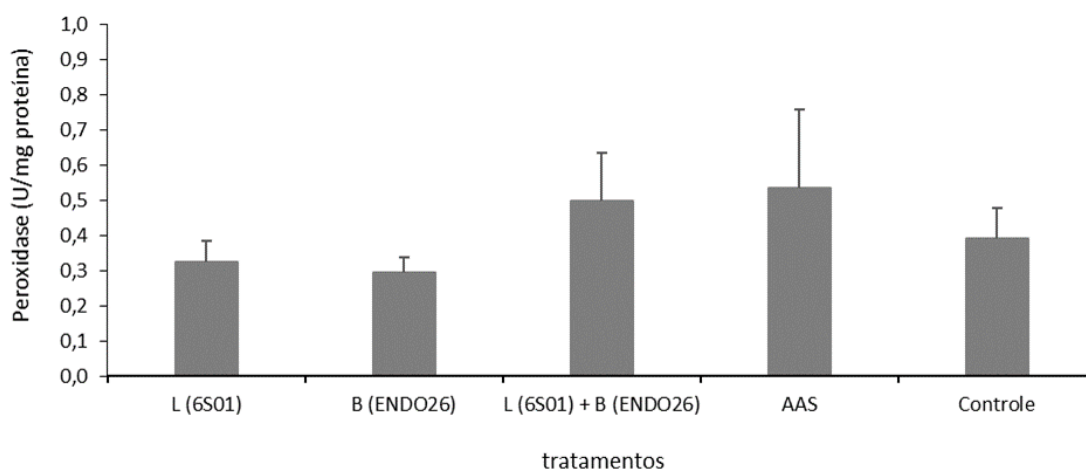


Figura 14 B. Atividade da enzima polifenoloxidase nos extratos vegetais de plantas de milho.

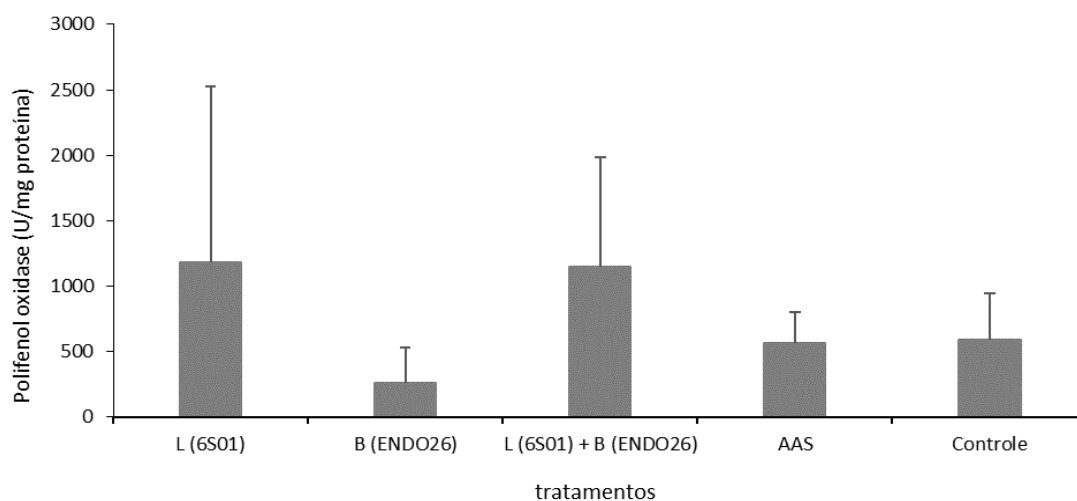
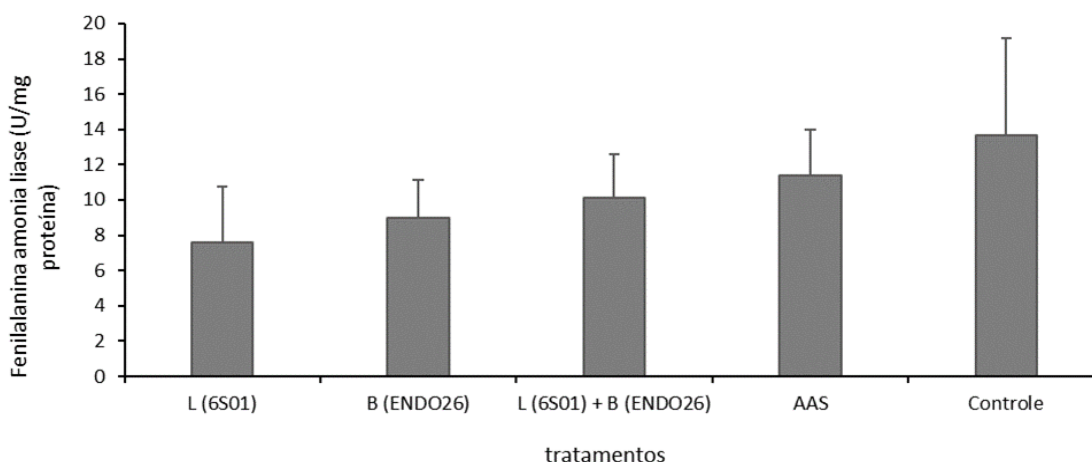


Figura 15. Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase nos extratos vegetais de plantas de milho.



Letras diferentes indicam diferença estatística a 5% pelo teste de Fisher.

Polifenoloxidasas são enzimas responsáveis pela oxidação de compostos fenólicos que geram uma ação antimicrobiana, e geralmente está elevada em tecidos infectados ou danificados, o que é de grande importância para as plantas, pois está envolvida nos mecanismos de defesa e/ou senescência (CAMPOS; SILVEIRA, 2003; CHARLES; PEREIRA, 2017). Campos *et al.*, (2004) investigaram a atividade de peroxidase e polifenoloxidase em cultivares de feijão pulverizados com AAS e microrganismos indutores, constatando um aumento na atividade dessas enzimas após a inoculação de patógenos. De acordo os autores, a atividade de dessas enzimas está associada a vários processos do sistema de defesa das plantas, como a resposta hipersensível, a lignificação e a ação antimicrobiana.

De acordo com Pascholati *et al.*, (1986), a fenilalanina amônia-liase é uma enzima intensamente estudada em plantas e que atua no metabolismo de compostos fenólicos, sendo a enzima-chave na regulação da rota dos fenilpropanóides. Além disso, atua como catalisadora da L-fenilalanina em ácido trans-cinâmico e amônia; a regulação do acúmulo de fenóis se mostra eficaz em resposta a infecção e ferimentos. A enzima PAL é uma das primeiras a ser ativada no metabolismo secundário, desencadeando rapidamente uma série de mecanismos, como a via dos fenilpropanóides. Essa via leva à síntese de fitoalexinas, ligninas, ácido benzóico e ácido salicílico, sendo este último considerado um sinal importante na amplificação das respostas defensivas sistêmicas (HAMMERSCHMIDT, 1999). Castro *et al.*, (2005) descreveram que a fenilalanina amônia-liase não é detectada em quantidades

significativas em plantas sob baixas condições de estresse. No entanto, as atividades mais altas dessa enzima ocorrem em condições opostas, ou seja, durante períodos mais frios e secos, com maiores variações de temperatura, característicos da estação seca. Esses achados estão em concordância com o nosso estudo, pois as plantas de milho não passaram por nenhum tipo de estresse o que explica a ausência significativa da enzima fenilalanina amônia-liase. Boonchitsirikul *et al.*, (1998) também mencionam que a produção da enzima PAL, é geralmente ativada pela interação patógeno-planta, ou por outras condições de estresse que a planta este passando.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem que se alcancem as seguintes conclusões:

- A inoculação das plantas de milho com células da levedura *T. globosa* (6S01) proporcionou maior velocidade na emergência das plantas de milho, além de um maior número de plantas emergidas, se comparado aos outros tratamentos;

- O tratamento com células da levedura também proporcionou maior crescimento relativo do número de folhas, o que garantiu desenvolvimento vegetal mais rápido, com possíveis reflexos positivos para a produtividade ao fim do ciclo da cultura.

- A co-inoculação das plantas de milho com as células da levedura *T. globosa* (6S01) e as células da bactéria *B. subtilis* (ENDO26) proporcionaram maior desenvolvimento da parte aérea e da raiz, para comprimento e massa seca, mostrando que a parceria entre essas linhagens microbianas tem grande potencial para promover um crescimento direto da planta, provavelmente garantindo que os mecanismos de promoção de crescimento dessas linhagens, anteriormente observados em laboratório, foram empregados na associação entre as linhagens e as plantas (produção de AIA, solubilização de P, controle de fitopatógenos, indução de resistência).

- A inoculação das plantas com células da bactéria *B. subtilis* (ENDO 26) promoveu maior associação das plantas com os FMA naturalmente presentes no solo, mostrando o efeito sinérgico entre os diferentes grupos microbianos, e confirmando a hipótese de que a inoculação da bactéria tem um efeito positivo para estimular a microbiota natural do solo, que pode ser “convocada” para auxiliar o desenvolvimento

vegetal. Em menor grau, a inoculação das células da levedura também proporcionou estímulo aos FMA, de forma significativamente superior ao tratamento controle.

- Os resultados da quantificação das enzimas antioxidantes das plantas de milho, submetidas aos diferentes tratamentos, não mostrou diferença significativa. Provavelmente o fato das plantas não terem sido submetidas a estresses tenha impedido a detecção da potencial atividade de indução de resistência induzida esperada com a inoculação das plantas com os microrganismos estudados.

7. LITERATURA CITADA

AGUIAR, T. Frações polissacarídicas de fungos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes*) na indução de resistência em tomateiro (*Solanum lycopersicon*) contra *Xanthomonas gardneri*. **Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais)**, Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

ALBERTINI, J.; ROCHA, R. K.; BASTOS, R.; CECCATO-ANTONINI, R.; ROSA-MAGRI, M. Phosphate solubilization and indole acetic acid production by rhizosphere yeast *Torulaspora globosa*: improvement of culture conditions for better performance in vitro. **3 Biotech**, v. 12, n. 10, 2022.

AMPRAYN, K.; ROSE, M. T.; KECSKÉS, M.; PEREG, L.; NGUYEN, H. T.; KENNEDY, I. R. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth. **Applied Soil Ecology**, v. 61, p. 295–299, 2012.

ANDORF, C.; BEAVIS, W. D.; HUFFORD, M.; SMITH, S.; SUZA, W. P.; WANG, K.; WOODHOUSE, M.; YU, J.; LÜBBERSTEDT, T. Technological advances in maize breeding: past, present and future. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 132, n. 3, p. 817–849, 2019.

ANDRADE, F. C.; FERNANDES, F.; OLIVEIRA JÚNIOR, A.; RONDINA, A. B. L.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Enrichment of organic compost with beneficial microorganisms and yield performance of corn and wheat. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25, n. 5, p. 332–339, 2021.

ANNADURAI, B.; THANGAPPAN, S.; KENNEDY, Z. J.; PATIL, S. G.; UTHANDI, S. Co- inoculant response of plant growth promoting non-rhizobial endophytic yeast *Candida tropicalis* VYW1 and *Rhizobium* sp. VRE1 for enhanced plant nutrition, nodulation, growth and soil nutrient status in Mungbean (*Vigna mungo* L.). **Symbiosis**, v. 83, n. 1, p. 115–128, 2020.

APARECIDA, M.; REGITANO-D'ARCE, B.; HELENA, M.; SPOTO, F.; CAROLINA, A.; CASTELLUCCI, L. **Processamento e industrialização do milho para alimentação humana**. 2015

Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Industrializacao-artigo2.pdf>.

ARAÚJO, V. C.; ROSSATI, K. F.; XAVIER, L. V.; AMARAL DE OLIVEIRA, V.; DOS SANTOS CARMO, G. J.; DE ASSIS, G. A.; DE OLIVEIRA MENDES, G. Enhanced growth in nursery of coffee seedlings inoculated with the rhizosphere fungus *Aspergillus niger* for field transplantation. **Rhizosphere**, v. 15, p. 100236, 2020.

ARIAS PEÑALOZA, M. I. **Descripción de la diversidad microbiológica y entomológica de suelos asociados con árboles de los géneros Theobroma y Herrania en la región del Chocó colombiano**. 2021. Universidad de los Andes-Colombia, 2021.

ARNAOUTELI, S.; BAMFORD, N. C.; STANLEY-WALL, N. R.; KOVÁCS, Á. T. *Bacillus subtilis* biofilm formation and social interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 9, p. 600–614, 2021.

ARNON, D. I. COPPER ENZYMES IN ISOLATED CHLOROPLASTS. POLYPHENOLOXIDASE IN BETA VULGARIS. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1–15, 1949.

BADÍA, M. M.; GONZÁLEZ, M. A.; ROCAJULL, Y.; MOYA, D.; SÁNCHEZ, J. Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. **Acta Agronómica**, v. 69, n. 1, p. 54–60, 2020. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/journal/1699/169965185008/html/>>. Acesso em: 1 fev. 2024.

BASU, A.; PRASAD, P.; DAS, S. N.; KALAM, S.; SAYYED, R. Z.; REDDY, M. S.; EL ENSHASY, H. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. **Sustainability**, v. 13, n. 3, p. 1140, 2021.

BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. J.; BAKKER, P. A. H. M. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 8, p. 478–486, 2012.

BERRUTI, A. *et al.* Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Natural Biofertilizers: Let's Benefit from Past Successes. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2016.

BEZERRA, G; TAKITA, M. A; TOSTA, C. D; ANTONINIM S. R; ROSA, M.M. Screening of plant growth-promoting bacteria isolated from sugarcane. **Ciências Agraria**, Londrina, v. 43, n. 4, p. 1757-1768, 2022.

BEZERRA, G; TAKITA, M. A; TOSTA, C. D; ANTONINIM S. R; ROSA, M.M. Screening of plant growth-promoting bacteria isolated from sugarcane. *Ciências Agraria*, Londrina, v. 43, n. 4, p. 1757-1768, 2022.

- BHATTACHARYYA, P. N.; DHARVA KUMAR JHA. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1327–1350, 2011.
- BLAKE, C.; CHRISTENSEN, M. N.; KOVÁCS, Á. T. Molecular Aspects of Plant Growth Promotion and Protection by *Bacillus subtilis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 34, n. 1, p. 15–25, 2021.
- BOAS, D. F. V.; LUIZ, J. H. H.; MALPASS, G. R. P. *et al.* Endophytic microorganisms as source of new medicinal interest compounds: a brief revision. **Revista Brasileira de Ciências, Tecnologia e Inovação**, v. 5, n. 1, p. 71-86, 2020.
- BOONCHITSIRIKUL, C.; WASANO, K.; NOSE, A. Activities of Phenylalanine Ammonia-lyase (PAL) and Tyrosine Ammonia-lyase (TAL) in Young Rice Panicles Inoculated with *Pyricularia grisea*. **Japanese Journal of Tropical Agriculture**, v. 42, n. 1, p. 39–45, 1998.
- BORGES CHAGAS, L. F.; LIMA MARTINS, A. L.; RODRIGUES DE CARVALHO FILHO, M.; DE OLIVEIRA MILLER, L.; DE OLIVEIRA, J. C.; FREITAS CHAGAS JUNIOR, A. *Bacillus subtilis* E *Trichoderma sp.* NO INCREMENTO DA BIOMASSA EM PLANTAS DE SOJA, FEIJÃO-CAUPI, MILHO E ARROZ. **AGRI-ENVIRONMENTAL SCIENCES**, v. 3, n. 2, p. 10–18, 2017.
- BORRIS, R. *Bacillus*, a plant-beneficial bacterium. in: Principles of Plant-Microbe Interactions. **Springer International Publishing**, p. 379-391, 2015.
- BOUKERMA, L.; BENCHABANE, A. C.; KHELIFI, L. Activity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs) in the Biocontrol of Tomato Fusarium Wilt. **Plant Protection Science Agricultural Journals**, v. 53, n. 2, p. 78-84, 2017.
- BUHEL, A. C.; METZLER, C. R.; CASTIGLIONI, J. L.; DASSOLLER, T. F.; LUBIAN, M. S. APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTES E *Bacillus subtilis* NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DA CULTURA DO MILHO. **REVISTA DE AGRICULTURA NEOTROPICAL**, v. 6, n. 4, p. 69–74, 2019. Disponível em: <<https://periodicosonline.uems.br/index.php/agrineo/article/view/2762>>.
- CABRINI, P. G.; SALA, F. C.; MAGRI, M. M. R. *Torulaspota globosa*: rhizosphere yeast promoting lettuce growth on seedlings and under field conditions. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 266–271, v. 37, n. 3, 2019.
- CALVO, A. E.; ESTRADA, A.; MÉNDEZ, C. L.; MICELI, M. A. Efectos de *Bacillus subtilis* cepas GBO3 y IN937b en el crecimiento de maíz (*Zea mays* L.). *Polibotánica*, v. 0, n. 53, 2022. Acesso em: 20 fev. 2022.
- CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; OSÓRIO, V. A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2004.

CARVALHO, N. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 7, nº 7, p. 1379-1390, 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/reget/article/viewFile/5930/3603>.

CASTRO, A. H. F.; ALVARENGA, A. A.; SOARES, A. M.; YOUNG, M. C. M. Avaliação sazonal da atividade da fenilalanina amônia-liase e dos teores de fenóis e taninos totais em *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. **Juss.**: uma espécie medicinal do cerrado. n. 3, p. 45–55, 2005.

CASTRO, V. Ficha Técnica Marchitez del Agave. Disponível em: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/244027/Ficha_Tcnica_Fusarium_verticillioides_en_agave>. 2003.

CHARLES MONTEIRO, G.; PEREIRA LIMA, G. P. **Atividade da Polifenoloxidase (PPO)**. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA INSTITUTO DE BIOCÊNCIA. 2017. Disponível em: <<https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/quimicaebioquimica/metodo-da-atividade-da-polifenoloxidase-ppo.pdf>>.

COÊLHO, J. D. Milho: produção e mercados. Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste (ETENE), 2021.

COLOMBINI, F; ANTONINI, S.R; ROSA, M.M. Maize treatment with yeast cells induces resistance against *Fusarium rot*. **Microbiology International**, v. 0, p. 1-8, 2022.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acomp. safra brasileira de grãos, Safra 2022/23, n.12 - Décimo segundo levantamento, setembro 2023 Brasília, DF, v.10, p. 1-111, Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra-graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 07 de setembro 2023

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). Milho é um dos cereais mais nutritivos e versáteis do mundo. **Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA)**. Disponível em: <<https://cnabrasil.org.br/noticias/milho-e-um-dos-cereais-mais-nutritivos-e-versateis-do-mundo>>. Acesso em: 10 set. 2023.

CONRADO, M.; SÉRGIO, M.; MAZARO, M.; CESAR DA, J.; TÉCNICOS, S. **Trichoderma USO NA AGRICULTURA**. 2019. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/208230/1/livro-trichoderma-online-06.01.20.pdf>>. Acesso em: 7 out. 2023.

CONSULTORIA, C. J. **Milho: Suas Versatilidades de Consumo e Utilização**. 2022. Disponível em: <<https://www.cetajrconsultoria.com/milho-suas-versatilidades-de-consumo-e-utilizacao/>>. Acesso em: 25 abr. 2024.

CONTRERAS, D.; ARÉVALO-GALARZA, L.; RAMÍREZ-GUZMAN, M. E.; CADENA-IÑIGUEZ, J.; HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, M. V. Quality of floral stems of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Raf.) inoculated with *Bacillus subtilis* and *Glomus intraradices*. **Ornamental Horticulture**, v. 28, n. 4, p. 414–422, 2022.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; DEL-VAL, E.; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92, n. 4, p. 36, 2016.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; DEL-VAL, E.; LARSEN, J. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92, n. 4, 2016.

CORRÊA, E. B.; BETTIOL, W.; SUTTON, J. C. Controle biológico da podridão radicular (*Pythium aphanidermatum*) e promoção de crescimento por *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 e *Bacillus subtilis* GB03 em alface hidropônica. **Summa Phytopathologica**, v.36, p.275-281, 2010.

COSTA, L. C.; RIMOLDI TAVANTI, R. F.; RIMOLDI TAVANTI, T.; SPAZIANI PEREIRA, C. DESENVOLVIMENTO DE CULTIVARES DE SOJA APÓS INOCULAÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus subtilis*. **Nativa**, v. 7, n. 2, p. 126, 2019.

CUSTÓDIO, C. C.; ARAÚJO, F. F. de; RIBEIRO, A. M.; FILHO, N. V. de S.; MACHADO-NETO, N. B. Seed treatment with *Bacillus subtilis* or indol butyric acid: germination and early development of bean seedlings. **Interciencia**, v. 38, n. 4, p. 273–279, 2013. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33926985009>>.

DE ALMEIDA SCARCELLA, A. S.; BIZARRIA JUNIOR, R.; BASTOS, R. G.; ROSA MAGRI, M. M. Temperature, pH and carbon source affect drastically indole acetic acid production of plant growth promoting yeasts. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 2, p. 429–438, 2017.

DE OLIVEIRA, A. O.; PERES R. DA COSTA, A. C.; ZUCARELI, V. INOCULAÇÃO COM AZOSPIRILLUM BRASILENSE, TRICHODERMA HARZIANUM, BACILLUS SUBTILIS E BACILLUS MEGATERIUM EM SEMENTES DE MILHO. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 13, n. 1, p. e12424–e12424, 2024. Disponível em: <https://portaldeperiodicos.animaeducacao.com.br/index.php/gestao_ambiental/article/view/12424/19185>.

DEEPA, N.; ACHAR, P.; SREENIVASA, M. Current Perspectives of Biocontrol Agents for Management of *Fusarium verticillioides* and Its Fumonisin in Cereals—A Review. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 9, p. 776, 2021.

DINIZ CAMPOS, Â.; MARIETE DA LUZ SILVEIRA, E. **Metodologia para determinação da peroxidase e do polifenol oxidase em plantas**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(Embrapa).2003. Disponível em:

<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/31616/1/comunicado87.pdf>>.

DOMINGUES, S. C. de O.; CAMILLO DE CARVALHO, M. A.; RABELO, H. de O.; MOREIRA, E. S.; SCATOLA, L. F.; DAVID, G. Q. MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM CULTIVARES DE ALFACE. **Nativa**, v. 9, n. 2, p. 100–105, 2021.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**. 1999.

DUARTE, J. O.; GARCIA, J. C.; MIRANDA, R. A. Cultivo de milho: Economia da produção. Sistema de produção Embrapa. 9º edição. Embrapa Milho e Sorgo, 2015.

DUARTE, J.; MATTOSO, M.; GARCIA, J. Importância Socioeconômica. Embrapa Milho e Sorgo, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/pre-producao/socioeconomia/importancia-socioeconomica>. Acesso em: jul. 15 de 2023

ERENSTEIN, O.; JALETA, M.; SONDER, K.; MOTTALEB, K.; PRASANNA, B. Global maize production, consumption and trade: trends and R&D implications. **Food Security**, v. 14, 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12571-022-01288-7>>.

FERNANDEZ-SAN MILLAN, A.; FARRAN, I.; LARRAYA, L.; ANCIN, M.; ARREGUI, L. M.; VERAMENDI, J. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from Spanish vineyards: benefits for seedling development. **Microbiological Research**, v. 237, p. 126480, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501320303487?via%3Dihub>>.

FILHO, R.; FERRO, H.; SILVA, R.; DE PINHO, C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica**, v. V. 4, n. 2, p. 12, 2010.

FIRDOUS, J.; LATHIF, N. A.; MONA, R.; MUHAMAD, N. Endophytic bacteria and their potential application in agriculture: A review. **Indian Journal Of Agricultural Research**, v. 53, n. 1, p. 1–7, 2019. Disponível em: <<https://arccjournals.com/journal/indian-journal-of-agricultural-research/A-366>>.

FONTES, E.; INGLIS, M. Controle Biológico de Pragas da Agricultura. **EMBRAPA**, Brasília, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/publicacoes/livro-controle-biologico-de-pragas-da-agricultura-embrapa>. 2020

FORNARI, E. Z.; GAVIRAGHI, L.; BASSO, C. J.; PINHEIRO, M. V. M.; VIAN, A. L.; SANTI, A. L. Relationship between photosynthetic pigments and corn production under nitrogen sources. **Pesquisa agropecuária tropical**, 2020. DOI: 10.1590/1983-40632020v5063661

FU, Z. Q.; DONG, X. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. **Annual Review of Phytopathology**, v. 64, p. 839-863, 2013.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, v. 7, n. 1, p. 1- 13, 2017.

GÁNDARA LEDEZMA, A.; GUTIÉRREZ CORONADO, M. A. Efecto de microorganismos promotores de crecimiento vegetal y yeso agrícola en el cultivo de higo. **Revista iberoamericana de las ciencias biológicas y agropecuarias**, v. 12, n. 23, p. 1–21, 2023.

GENRE, A. e BONFANTE, P. The marking of symbiotic cells in arbuscular mycorrhizal roots. In: Koltai, H. & Kapulnik, Y. Arbuscular mycorrhizas: physiology and function New York, **Department of Plant Biology**, 2010.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, n. 46, p. 235-244, 1963.

GOTETI, P.K., EMMANUEL, L.D.A., DESAI, S., SHAIK, M.H.A. Prospective zinc solubilising bacteria for enhanced nutrient uptake and growth promotion in maize (*Zea mays L.*). **Int. J. Microbiol.** p. 7, 2013.

GROBELAK, A.; NAPORA, A.; KACPRZAK, M. Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. **Ecological Engineering**, v. 84, p. 22–28, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925857415301257>>.

GUIMARÃES, L.; DURÃES, F.; PASTINA, M.; NODA, R.; PARENTONI, S.; GUIMARÃES, P.; TRINDADE, R.; Z, J. Hitos tecnológicos que cambiaron el rol de Brasil en la producción de maíz: 30 años de crecimiento para convertirse en importante actor del escenario mundial, una revisión. **ACI Avances en Ciencias e Ingenierías**, v. 14, n. 1, 2022.

HAMMERSCHMIDT, R. PHYTOALEXINS: What Have We Learned After 60 Years? **Annual Review of Phytopathology**, v. 37, n. 1, p. 285–306, 1999.

ASHEM, A.; TABASSUM, B.; FATHI ABD_ALLAH, E. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291–1297, 2019.

HU, J.; LI, M.; LIU, H.; ZHAO, Q.; LIN, X. Intercropping with sweet corn (*Zea mays L. var. rugosa* Bonaf.) expands P acquisition channels of chili pepper (*Capsicum annuum L.*) via arbuscular mycorrhizal hyphal networks. **Journal of Soils and Sediments**, v. 19, n. 4, p. 1632–1639, 2019.

IAC apresenta três novidades em milho para o público da Agrishow. Portal Agrolink, 2011. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/iac-apresenta-tres-novidades-em-milho-para-o-publico-da-agrishow_129531.html. Acesso em: 14 jul. 2023.

IJDO, M.; CRANENBROUCK, S.; DECLERCK, S. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. **Mycorrhiza**, v. 21, n. 1, p. 1–16, 2010.

ILLA, C.; PÉREZ, A. A.; TORASSA, M.; PÉREZ, M. A. Effect of biocontrol and promotion of peanut growth by inoculating *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* under controlled conditions and field. **Mexican Journal of Phytopathology**, v. 38, n. 1, 2019.

INSTITUTO BRASILEÑO DE GEOGRAFÍA Y ESTADÍSTICA (IBGE). In March, IBGE previews a crop of 298.3 million tonnes for 2024 | News Agency. Disponível em:

<<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/en/agencia-press-room/2185-news-agency/releases-en/39756-em-marco-ibge-preve-safra-de-298-3-milhoes-de-toneladas-para-2025>>. Acesso em: 25 abr. 2024.

JAÉN CONTRERAS, D.; ARÉVALO GALARZA, L.; RAMÍREZ GUZMAN, M. E.; CADENA IÑIGUEZ, J.; HERNÁNDEZ VÁZQUEZ, M. V. Quality of floral stems of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Raf.) inoculated with *Bacillus subtilis* and *Glomus intraradices*. **Ornamental Horticulture**, v. 28, n. 4, p. 414–422, 2022.

JAIN, S.; KUMARI, S.; VAISHNAV, A.; CHOUDHARY, D. K.; SHARMA, K. P. Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria from soybean rhizosphere and their effect on soybean plant growth promotion. **International Journal of Advanced Scientific and Technical Research**, v. 5, n. 6, 2016.

JALONEN, R.; TIMONEN, S.; SIERRA, J.; NYGREN, P. Arbuscular mycorrhizal symbioses in a cut-and-carry forage production system of legume tree *Gliricidia sepium* and fodder grass *Dichanthium aristatum*. **Agroforestry Systems, New York**, v. 87, n. 2, p. 319-330, 2013.

KANG, S. C.; HA, C. G.; LEE, T. G.; MAHESHWARI, D. K. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soilinhabiting fungus *Fomitopsis* sp. PS 102. *Current Science*. Bangalore, v.82, n 4, p.439-442, 2002.

KLEIN, H. S.; VIDAL LUNA, F. The Impact of the Rise of Modern Maize Production in Brazil and Argentina. *Historiaagraria.com*, p. 273–310, 2020. Disponível em: <https://www.historiaagraria.com/en/issues/herbert_s_klein_francisco_vidal_luna-the_impact_of_the_rise_of_modern_maize_production_in_brazil_and_argentina>. Acesso em: 25 abr. 2024.

KOHLER, J.; CARAVACA, F.; CARRASCO, L.; ROLDÁN, A. Interactions between a plant growth-promoting rhizobacterium, an AM fungus and a phosphate-solubilising fungus in the rhizosphere of *Lactuca sativa*. **Applied Soil Ecology**, v. 35, n. 3, p. 480–487, 2007.

KOVÁCS, Á. T. *Bacillus subtilis*. **Trends in Microbiology**, v. 27, n. 8, p. 724–725, 2019.

KURTZMAN, C. P.; PIŠKUR, J. Taxonomy and phylogenetic diversity among the yeasts. **Comparative Genomics**, p. 29–46, 2006.

KUYPER, T. e JANSÁ, J. Arbuscular mycorrhiza: advances and retreats in our understanding of the ecological functioning of the mother of all root symbioses. **Plant and Soil**, v. 489, n. 1-2, p. 41–88, 2023.

LANNA, R.; FERRO, H.M.; PINHO, R.S.C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. Revista Trópica: **Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, n.2, p.12-20, 2010.

LEE, S. S.; ROBINSON, F. M.; WANG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology and Bioengineering Symposium**, v. 11, p. 641-649, 1981.

LI, M.; HU, J.; LIN, X. The roles and performance of arbuscular mycorrhizal fungi in intercropping systems. **Soil Ecology Letters**, v. 4, n. 4, p. 319–327, 2021.

LIMA, A. Micorrizas arbusculares e absorção de fósforo em função da capacidade de fixação de fósforo do solo e da competição com a microbiota. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 13, n. 3, p. 1062–1079, 2020.

LIMA, F. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. do V. B.; ARAÚJO, F. F. de; LIMA, L. M.; ARAÚJO, A. S. F. de. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira Ciências Agrárias**, v. 6, n. 4, p. 544-550, 2011. Disponível em: <http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=119021237016>.

LIU, J.; FERNIE, A. R.; YAN, J. The Past, Present, and Future of Maize Improvement: Domestication, Genomics, and Functional Genomic Routes toward Crop Enhancement. **Plant Communications**, v. 1, n. 1, p. 100010, 2020.

LOPES, M.; SANTIAGO, B. S.; SILVA, I. N. B.; GURGEL, E. S. C. Biotecnologia microbiana: inoculação, mecanismos de ação e benefícios às plantas. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, 2021. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/20585>>.

LUO, J.; ZHOU, J.-J.; ZHANG, J.-Z. Aux/IAA Gene Family in Plants: Molecular Structure, Regulation, and Function. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 259, 2018.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, 1999.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C.F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, n.1, p.274-288, 2012

MACHADO, R.; CALVI, V.; PACCOLA, E.; SCHMIDT FILHO, E.; GASPAROTTO, F. Inoculação foliar de plantas de milho com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 34, 2020. Disponível em: <<https://www.conhecer.org.br/enciclop/2020D/inoculacao.pdf>>.

MAGALHÃES, K. S.; NEGRI, B. F.; SOUSA, S. M. ANÁLISE MORFOLÓGICA DO SISTEMA RADICULAR DO PAINEL DE DIVERSIDADE DE MILHO DA EMBRAPA MILHO E SORGO. **Embrapa, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n. 64, 2013.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n.1, p. 176-177, 1962.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Conceitos: Conheça a base conceitual do Programa Nacional de Bioinsumos. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovac-ao/bioinsumos/o-programa/conceitos>.

MAROTTA, H.; MANGAS, I. **Relações solo-planta: Bases para a nutrição e produção vegetal**. Editora UFV, 2021.

MARQUES, A.; BARACAT-PEREIRA, M. C.; GAMES, P. D.; FONTES, P. P.; JUNIOR, M. J.; BARBOSA, M. O.; CARRIJO, L. C.; LIMA, P. H. F.; PEREIRA, P. R. G.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; ABDELNOOR, R. V.; BARROS, E. G. Enzimas indicadoras do estado de indução de resistência em genótipos de soja submetidos à deficiência de potássio. **VI Congresso Brasileiro de Soja**. Mato Grosso: Cuiabá, 2012. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/928168/1/9s478.pdf>

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A. Efeito da posição da semente no substrato e no crescimento inicial das plântulas de palmito-vermelho (*Euterpe espirotosantensis* Fernandes – *Palmae*). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 164–173, 1999.

MARTINS, R. M. S.; MELLONI, R.; MELLONI, E. G. P. Crescimento micelial de fungos micorrízicos arbusculares e formação de micorriza em solos contaminados por cádmio. **Revista Scientia Agraria**, v. 18, n. 3, p. 48-60, 2017.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAÚJO, F. F. de. INOCULAÇÃO DE *Bacillus subtilis* E *Azospirillum brasilense* NA CULTURA DO MILHO. **Colloquium Agrariae. ISSN: 1809-8215**, v. 10, n. 2, p. 40–47, 2014.

MÉLO-FILHO, L. R.; GUENTHER, M. A Resistência Sistêmica Induzida como Alternativa Sustentável ao Uso de Agrotóxicos. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 8, n. Ed.esp., p. 27, 2015. Acesso em: 3 mar. 2023.

MILHO DE MT É PROTAGONISTA NA VIRADA DE CHAVE DA PRODUÇÃO DE ETANOL DO PAÍS | RDNEWS - **PORTAL DE NOTÍCIAS DE MT**. 2023. Disponível em: <https://www.rdnews.com.br/economia/conteudos/173709>. Acesso em: 8 set. 2023.

MILJAKOVIĆ, D.; MARINKOVIĆ, J.; TAMINDŽIĆ, G.; MILOŠEVIĆ, D.; IGNJATOV, M.; KARAČIĆ, V.; JAKŠIĆ, S. Bio-Priming with *Bacillus* Isolates Suppresses Seed Infection and Improves the

Germination of Garden Peas in the Presence of Fusarium Strains. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 5, p. 358, 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/10/5/358>>.

MOHAMED, I.; EID, K. E.; ABBAS, M. H. H.; SALEM, A. A.; AHMED, N.; ALI, M.; SHAH, G. M.; FANG, C. Use of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and mycorrhizae to improve the growth and nutrient utilization of common bean in a soil infected with white rot fungi. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 171, p. 539–548, 2019.

MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. MICORRIZAS. In: **Microbiologia e bioquímica do solo Lavras**, UFLA, 2002.

MOROCHO, M.; LEIVA-MORA, M. Microorganismos e cientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. **Centro Agrícola**. v. 46, n. 2. p. 93–103, 2019.

MUMTAZ, M. Z.; AHMAD, M.; JAMIL, M.; HUSSAIN, T. Zinc solubilizing Bacillus spp. potential candidates for biofortification in maize. **Microbiological Research**, v. 202, n. 1, p. 51-60, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.06.001>. DOI: 10.1016/j.micres.2017.06.001. NAIK, P. M.; AL-KHAYRI, J. M. Abiotic and biotic elicitors role in secondary metabolites production through in vitro culture of medicinal plants. **IntechOpen**, p. 768, 2016.

NANJUNDAPPA, A.; BAGYARAJ, D. J.; SAXENA, A. K.; KUMAR, M.; CHAKDAR, H. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and Bacillus spp. in soil enhancing growth of crop plants. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 6, n. 1, 2019.

NARDI, F. *et al.* Alterações morfofisiológicas promovidas pela micorriza arbuscular em plantas hortícolas: uma revisão integrativa. **Editora Científica Digital**. v., 1, 2023. Obtido de: **10.37885/230212152**.

NIMSI, K.; MANJUSHA, K.; KATHIRESAN, K.; ARYA, H. Plant growth-promoting yeasts (PGPY), the latest entrant for use in sustainable agriculture: a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 2, 2022. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jambio/article/134/2/1x088/6958802>>.

NUTARATAT, P.; SRISUK, N.; ARUNRATTIYAKORN, P.; LIMTONG, S. Plant growth promoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand. **Fungal Biology**. v. 118. p. 683–694, 2014.

O'CALLAGHAN, M. Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 13, p. 5729–5746, 2016.

OLIVEIRA, T.B.; BIZARRIA, J. R.; GODOI, L.S.; ROSA, M. M. Rhizosphere yeast *Torulaspora globosa* with plant growth promotion traits and improvement of the development of tomato seedlings under greenhouse conditions. **African Journal of Agricultural Research**. v.14. p. 935–942, 2019.

OMOTAYO, O.; BABALOLA, O. *Fusarium verticillioides* of maize plant: Potentials of propitious phytomicrobiome as biocontrol agents. **Frontiers in fungal biology**, v. 4, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/ffunb.2023.1095765/full>. Acesso em: 28 ago. 2023.

ONG, P.; JIAN, J.; LI, X.; YIN, J.; MA, G. Visible and near-infrared spectroscopic determination of sugarcane chlorophyll content using a modified wavelength selection method for multivariate calibration. **Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy**, v. 305, p. 123477–123477, 2024.

PAN, W.; CHENG, X.; DU, R.; ZHU, X.; GUO, W. Detection of chlorophyll content based on optical properties of maize leaves. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 309, p. 123843, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138614252400009X>. Acesso em: 12 maio. 2024.

PANOZZO, L. E.; BRAGA SCHUCH, L. O.; TEICHERT PESKE, S. MIELEZRSKI, F.; BECKER PESKE, F. Comportamento de plantas de soja originadas de sementes de diferentes níveis de qualidade fisiológica. **Revista da FZVA**, v. 16, n. 1, 2009

PÉREZ, D.; GARCÍA, P.; PIMENTEL, K. Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la fase inicial de crecimiento de *Zea mays* L. **Avances**, v. 23, n. 3, 2021.

PÉREZ, R.; TAPIA, Y.; ANTILÉN, M.; RUIZ, A.; PIMENTEL, P.; SANTANDER, C.; APONTE, H.; GONZÁLEZ, F.; CORNEJO, P. Beneficial Interactive Effects Provided by an Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Yeast on the Growth of *Oenothera picensis* Established on Cu Mine Tailings. **Plants**, v. 12, n. 23, p. 4012, 2023.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Trans. Br. Mycol. Soc., London**, v.55, p.158-161, 1970.

POLLI DE OLIVEIRA, L. G.; BORSOI, A.; DE SOUZA WALIGURA, I. APLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS VIA SULCO DE SEMEADURA NA CULTURA DA SOJA. **Anais do City Farm**, v. 1, n. 1, 2022. Disponível em: <https://themaetscientia.fag.edu.br/index.php/cityfarm/article/view/1676/1555>. Acesso em: 4 jun. 2024.

PONTE FILHO, F. L.; POMPEU, R. C. F. F.; SAGRILO, E.; ANDRADE, H. A. F.; COSTA, C. P. M.; SOUZA, H. A. Productivity and nutrient export in a maize and forage grasses intercropping under semiarid conditions. **Revista brasileira de saúde e Produção animal**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-994020220029>

QUIN, Y.; ANGELINI, L.; CHAI, Y. *Bacillus subtilis* Cell Differentiation, Biofilm Formation and Environmental Prevalence. **Microorganisms**, v. 10, n. 6, p. 1108–1108, 2022.

QUINTANA, L. *et al.* Efecto del maíz inoculado con hongos micorrízicos arbusculares y asociado con canavalia en la producción de forraje. **CENTRO AGRÍCOLA**, v. 48, n. 4, 2021.

RESENDE, M.L.V.; SALGADO, S.L.M.; CHAVES, Z.M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.123-130, 2003

RODRIGUES, A. V.; PEREIRA, H.; FERREIRA DE SOUZA, F.; BINI, D. Combinação de cepas de *Bacillus* e *Azospirillum* e doses de fósforo associada a taxa de colonização micorrízica e desenvolvimento foliar de milho. **XXXIII Congresso Nacional de milho e sorgo**. Sete Lagoas, MG, 2022. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1148511/1/Combinacao-de-cepas-de-Bacillus-e-Azospirillum-e-doses-de-fosforo-associada-a-taxa-de-colonizacao-micorrizica-e-desenvolvimento-foliar-de-milho.pdf>

ROJAS, M. M.; BELLO-GONZÁLEZ, M. Á.; RÍOS ROCAFULL, Y.; LUGO-MOYA, D.; RODRÍGUEZ SÁNCHEZ, J. Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. **Acta Agronómica**, v. 69, n. 1. 2020.

ROSA, M. M. *et al.* Release of potassium from rock powder by the yeast *Torulaspota globosa*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, v. 577–582, 2012.

ROSA, M.M. *et al.* Evaluation of the biological control by the yeast *Torulaspota globosa* against *Colletotrichum sublineolum* in sorghum. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 26, n. 8, p. 1491–1502, 2010.

ROSA, M.M.; TORNISIELO, S.M.; ANTONINI, S.R. Bioprospection of yeasts as biocontrol agents against phytopathogenic molds. Agriculture, **Agribusiness and Biotechnology**, v. 54, p.1–5, 2011.

SAHAGÚN, A. *et al.* Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. **REVISTA TERRA LATINOAMERICANA**, v. 38, n. 2, p. 333–345, 2020.

SALINAS SERRANO, A. M. **Respuesta de tres niveles de sombra sobre los parámetros morfofisiológicas en el crecimiento inicial del cacao (*Theobroma cacao* L.) clon EETP801 en Zamora Chinchipe**. 2022. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES. CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA, 2022.

SALOME, E. Microorganismos del suelo y sustentabilidad de los agroecosistemas. **Revista argentina de microbiología**, v. 43, n. 1, p. 1–3, 2023. Disponível em: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412011000100001&script=sci_arttext&lng=en. Acesso em: 7 jul. 2023.

- SAMSUDIN, N.I.P.; MAGAN, N. Efficacy of potential biocontrol agents for control of *Fusarium verticillioides* and fumonisin B1 under different environmental conditions. **World Mycotoxin Journal**, vol. 9, p. 205-213, 2016.
- SATYAPRAKASH, M. *et al.* A Review on Phosphorous and Phosphate Solubilising Bacteria and Their Role in Plant Nutrition. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.6, p., 2133-2144, 2017.
- SEGAL-KISCHINEVZKY, C.; ROMERO-AGUILAR, L.; ALCARAZ, L. D.; LÓPEZ-ORTIZ, G.; MARTÍNEZ-CASTILLO, B.; TORRES-RAMÍREZ, T.-R.; SANDOVAL, G.; GONZÁLEZ, J. Farshad Darvishi. Yeasts Inhabiting Extreme Environments and Their Biotechnological Applications. **Microorganisms**. 2022
- SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, 31 out. 2013.
- SILVA BOSQUEIRO, A.; BIZARRIA JR, R.; ROSA-MAGRI, M. M. Biocontrol of post-harvest tomato rot caused by *Alternaria arborescens* using *Torulaspora indica*. **Biocontrol science and technology**, v. 33, n. 2, p. 115–132, 2023.
- SILVA, K. C. *et al.* Biocontrol of plant-parasitic nematodes by soil in soybean cultivation. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 15, p. e118111536768-e118111536768, 2022.
- SOUSA, J.; BONAFIN, M.; LIMA, R. Baixo rendimento da produção de milho relacionado a doenças fúngicas. **JNT Facit Business and Technology Journal**. FLUXO CONTÍNUO, v. 2. p. 659-680, 2023. ISSN: 2526-4281 <http://revistas.faculdefacit.edu.br>.
- SOUTO, A.; BELONI, G.; DE AZEVEDO, V.; MORAES, C. T.; TIAGO, D. DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MILHO COM USO DE MICRORGANISMOS. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 32,. 2020.
- SOUZA ALVES, K. C.; MARTINS DE ALMEIDA, M.; CORREA GLÓRIA, J.; ARAÚJO, F.; DOS SANTOS, F. A.; PEREIRA, K. D.; PEREIRA DE CASTRO, D.; MORAIS MARIÚBA, L. A. *Bacillus subtilis*: uma versátil ferramenta biotecnológica 1. **Scientia Amazonia**, n. 2, p. 15–23, 2018.
- SOUZA BERNARDES, F.; RODRIGUES ALVES PATRÍCIO, F.; SILVA SANTOS, A.; DOS SANTOS FREITAS, S. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias em cultivos hidropônicos. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 115–121, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/sp/a/dgzQWFmTWNZCyCK9PxKhY5Q/?lang=pt>>. Acesso em: 16 ago. 2022
- STARMER, W.T; LACHANCE, M.A. Yeast ecology. **The Yeasts**. p. 1:65–83, 2011.
- STEPANOVA, N. N. *et at.* Investigation of the Zinc Effect on Lipid Biosynthesis in *Torulaspora globosa*. V Pushchino School-Conference on Biochemistry, Physiology, and Biospheric Role of Microorganisms, **Chemistry and Ecology**, p. 176, 2018.

SU, Y.; LIU, C.; FANG, H.; ZHANG, D. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. **Microbial Cell Factories**, v. 19, n. 1, 2020.

SUN, P.-F.; FANG, W.-T.; SHIN, L.-Y.; WEI, J.-Y.; FU, S.-F.; CHOU, J.-Y. Indole-3-Acetic Acid-Producing Yeasts in the Phyllosphere of the Carnivorous Plant *Drosera indica* L. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, p. e114196, 2 dez. 2014.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LATORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na amazônia. *Acta Amazônica*, Manaus, v.1, p.12-22, 1982.

TAVARES, A. T.; VAZ, J. C.; HAESBAERT, F. M.; REYES, I. D. P.; ROSA, P. H. L.; FERREIRA, T. A.; NASCIMENTO, I. R. Adubação NPK como promotor de crescimento em alface. **Agri-Environmental Sciences**, v.5, p.1-9, 2019.

TEIXEIRA DA SILVA, F. **Humana - Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/pos-producao/agroindustria-do-milho/alimentacao/humana>>. Acesso em: 10 ago. 2023.

TEKAYA, M.; MECHRI, B.; MBARKI, N.; CHEHEB, H.; HAMMAMI, M.; ATTIA, F. Arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* influences key physiological parameters of olive trees (*Olea europaea* L.) and mineral nutrient profile. **Photosynthetica**, v. 55, n. 2, p. 308–316, 2017.

TORSVIK V, OVREAS L. Microbial diversity and function in soils: from genes to ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* v.5, p. 240–245, 2002.

TUCUCH-HAAS, C. *et al.* Effect of salicylic acid on growth, nutritional status, and performance of maize (*Zea mays*) **Agrociencia**. 2017.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica** 34:68-71. 2006.

UTARATAT, P.; SRISUK. N.; ARUNRATTIYAKORN, P.; LIMTONG, S Plant growthpromoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand. **Fungal Biology**. v. 118. p. 683–694, 2014

VIERA-ARROYO, W.; TELLO-TORRES, C. M.; MARTÍNEZ-SALINAS, A. A.; NAVIA-SANTILLÁN, D. F.; LORENA ANABEL MEDINA-RIVERA, L. A.; ALEX GABRIEL DELGADO-PÁRRAGA, A. G.; CYNTHIA ESTEFANÍA PERDOMO-QUISPE, C. E.; ANA KATHERINE PINCAY-VERDEZOTO, A. K.; BÁEZ-CEVALLOS, F. J.; VÁSQUEZ-CASTILLO, W. A.; TREVOR, J. Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. **SciELO**, v. 8, n. 2, p. 128–149, 2020.

WILLIAMS, P. J.; BEZUIDENHOUT, C.; ROSE, L. Differentiation of Maize Ear Rot Pathogens, on Growth Media, with Near Infrared Hyperspectral Imaging. **Food Analytical Methods**, v. 12, n. 7, p. 1556–1570, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-019-01490-y>. Acesso em: 05 ago. 2023.

WORDELL, J. A.; NESI, C. N. Tombamento causado por *Fusarium verticillioides* na cultura do milho. **Agropecuária Catarinense**, v. 31, n. 2, p. 33–36, 2018. Disponível em: <https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/rac/article/view/269>. Acesso em: 13 set. 2023.

WU, H.; GU, Q.; XIE, Y.; LOU, Z.; XUE, P.; FANG, L.; YU, C.; JIA, D.; HUANG, G.; ZHU, B.; SCHNEIDER, A.; BLOM, J.; LASCH, P.; BORRIS, R.; GAO, X. Cold-adapted *Bacilli* isolated from the Qinghai–Tibetan Plateau are able to promote plant growth in extreme environments. **Environmental Microbiology**, v. 21, n. 9, p. 3505–3526, 2019.

YURKOV, A.; KEMLER, M.; BEGEROW, D. Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes. **Fungal Ecology**, v. 5, p. 24–35, 2012.

ZAIDI, A.; KHAN, M.; AHMED, M.; OVES, M. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, v. 56, n. 3, p. 263–284, 2009.

ZAMBRANO VERA, Á. D.; BONILLA LOOR, M. J.; GUILLÉN GARCÍA, J. F.; MOREIRA ALCÍVAR, C. O.; SOLÓRZANO ZAMBRANO, L. J. Efecto de hongos micorrízicos arbusculares en plántulas de maíz (*Zea mays* L.). **Pro Sciences**, v. 3, n. 25, p. 8–11, 2019.

ZEILINGER, S.; GRUBER, S.; BANSAL, R.; MUKHERJEE, P. K. Secondary metabolism in Trichoderma – Chemistry meets genomics. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 74–90, 2016.

ZIANE, S.; EL ALAOUI TALIBI, Z.; IBNSOUDA KORAICHI, S.; DOUIRA, A.; AMIR, S.; MEDDICH, A.; EL MODAFAR, C. Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi associated to plant growth-promoting rhizobacteria in suppression of soil-borne *Fusarium* wilt of date palm. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 51, p. 102753, 2023.