

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

KARINE MARES DE OLIVEIRA

EFEITOS DE *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* NA GERMINAÇÃO E SEMEADURA DE *Zea mays* (L.)

CAMPO MOURÃO

2022

KARINE MARES DE OLIVEIRA

EFEITOS DE *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* NA GERMINAÇÃO E SEMEADURA DE *Zea mays* (L.)

Effects of *azospirillum brasilense*, *bacillus subtilis* and *trichoderma asperellum* on germination and seeding of *zea mays* (L.)

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador: Paulo Agenor Alves Bueno.
Coorientadora: Adriele Rodrigues dos Santos.

CAMPO MOURÃO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

KARINE MARES DE OLIVEIRA

EFEITOS DE *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* NA GERMINAÇÃO E SEMEADURA DE *Zea mays* (L.)

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Ambiental da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 01 de Dezembro de 2022

Adriele Rodrigues dos Santos
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Ana Paula Peron
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Paulo Agenor Alves Bueno
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Raquel de Oliveira Bueno
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

CAMPO MOURÃO

2022

Agradeço à Deus pela finalização deste ciclo,
dedico este trabalho aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus pela força para que eu pudesse concluir esta etapa, deixo aqui também o meu agradecimento aos meus pais Nilda Mares e Edvaldo Ermano, pois acredito que o apoio deles foi essencial.

Agradeço aos amigos que participaram da minha trajetória durante o curso e que deixaram grandes contribuições em minha vida, Roberto Estronca, Natália Farias, Caroline Nakao, Camila Kobayashi, Matheus Moura, Bruno de Almeida, Yumi Munetiko, Leonardo Borges e Kerolaine Ost.

As professoras Débora Cristina Souza e Ana Paula Peron por me darem a oportunidade de trabalhar no laboratório de Ecologia e pela paciência de ensinarem. Ao meu orientador Profº Drº Paulo Agenor Alves Bueno, a minha coorientadora Profº Dra. Adriele Rodrigues dos Santos pelas orientações durante o planejamento e execução deste trabalho. As empresas CELF - Energias e Bioenergias e Agrocels Biotecnologia LTDA pelo fornecimento dos inóculos e por fim, à Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela oportunidade de graduação e à Secretaria do Curso de Engenharia Ambiental.

Dedico também este trabalho a todos os leitores que se sentirem beneficiados por esta leitura e espero que este estudo possa contribuir de alguma forma no aperfeiçoamento de futuros trabalhos.

RESUMO

Nos últimos anos, o avanço da biotecnologia na agricultura têm promovido uma nova estratégia de produtividade no cenário internacional, trazendo benefícios as esferas social, ambiental e econômica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação de microrganismos na germinação e semeadura de *Zea mays* (L.). Foram utilizadas as estirpes *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* diluídas nas concentrações 1%, 5% e 10% no teste de germinação e apenas a o microrganismo *Trichoderma asperellum* na semeadura em campo. O experimento de germinação ocorreu no Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia do Solo e a semeadura ocorreu em casa de vegetação do próprio campus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. De modo geral todos os microrganismos utilizados neste ensaio denotaram incrementos significativos nos parâmetros de massa fresca e seca de plúmulas, massa fresca de radículas e massa fresca e seca total em plântulas emergidas, denotando assim, embriões mais rústicos em termos de vigor, além de um melhor aporte de biomassa. Os resultados obtidos no teste de germinação indicaram que o tratamento *Trichoderma* 1% e 10% promoveram melhores desempenhos em grande parte dos parâmetros analisados. Na etapa de semeadura, embora as variáveis analisadas não apresentassem resultados superiores ao obtidos em plantios convencionais, foi demonstrado que a concentração *Trichoderma* 5%, promoveu incrementos importantes em massa fresca e seca de raízes, espigas e no peso total das plantas, concluindo que doses menores podem trazer um melhor custo-benefício ao produtor, frente ao crescimento vegetal. Este estudo sugere futuras pesquisas que possam detalhar a ação direta dos microrganismos nas estruturas fisiológicas das plantas em especial sob condições adversas

Palavras-chave: Biotecnologia; *zea mays* (L.); agricultura; inoculantes.

ABSTRACT

In recent years, the advancement of biotechnology in agriculture has promoted a new productivity strategy on the international scene, bringing benefits to the social, environmental, and economic spheres. This study aimed to evaluate the effects of inoculation of microorganisms on the germination and sowing of *Zea mays* (L.). The strains *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* and *Trichoderma asperellum* diluted in concentrations of 1%, 5% and 10% were used in the germination test and only the microorganism *Trichoderma asperellum* in the field sowing. The germination experiment took place at the Laboratory of Molecular Biology and Soil Microbiology and the sowing took place in a greenhouse on the campus of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná. In general, all microorganisms used in this test showed significant increases in fresh and dry mass of plumules, fresh mass of radicles and total fresh and dry mass in emerged seedlings, thus denoting more rustic embryos in terms of vigor, in addition to a better contribution of biomass. The results obtained in the germination test indicated that the *Trichoderma* 1% and 10% treatment promoted better performances in most of the analyzed parameters, in the sowing stage, although the analyzed variables did not present superior results to those obtained in conventional plantings, it was demonstrated that the 5% *Trichoderma* concentration, promoted important increments in fresh and dry mass of roots, ears and in the total weight of plants, concluding that smaller doses can bring a better cost-benefit ratio to the producer, in terms of plant growth. This study suggests future research that can detail the understanding of the direct action of microorganisms on the physiological structures of plants, especially under adverse conditions.

Keywords: Biotechnology; *zea mays* (L.); agriculture; inoculants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estágios de desenvolvimento do milho	24
Figura 2 - Fatores que afetam a produtividade do milho.	24
Figura 3 - Mapa de localização do Município de Campo Mourão – Paraná	26
Figura 4 - Fenologia de plântulas de milho.....	30
Figura 5 - Disposição dos canteiros experimentais	31
Figura 6 - Taxa de Germinação de Azo: Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial	33
Figura 7 - Índice de Velocidade de Germinação de Azo: Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento laboratorial.....	34
Figura 8 - Tempo Médio de Germinação dos tratamentos Azo: Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento laboratorial.....	34
Figura 9 - Massa fresca de plúmulas tratadas com Azo: Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.	35
Figura 10 - Massa fresca de radículas tratadas com Azo: Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.	35
Figura 11 - Massa fresca total de plântulas tratadas com Azo: Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.....	36
Figura 12 - Massa seca de plúmulas tratadas com Azo: Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.	37
Figura 13 - Massa seca de radículas tratadas com Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.	37
Figura 14 - Massa seca total de plântulas tratadas com Azo: Azospirillum brasilense, Bcl: Bacillus subtilis e Thz: Trichoderma asperellum, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.....	38
Figura 15 - Aspecto de plantas distribuídas por canteiros experimentais	38
Figura 16 - (A) Altura das plantas, (B) comprimento de raízes, (C) número de folhas por planta e (D) número de espigas, tratadas com Trichoderma asperellum diluído nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento de semeadura.	39
Figura 17 - (A) Massa Fresca de raízes, (B) espigas, (C) total de plantas tratadas com Trichoderma asperellum diluído nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento de semeadura.	40

Figura 18 - Aspecto de raízes (A), espigas (B) e plantas frescas (C) tratadas com <i>Trichoderma asperellum</i> diluído nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento de semeadura.	40
Figura 19 - Massa seca da raiz (A), espigas (B) e total de plantas (C) tratadas com <i>Trichoderma asperellum</i> diluído nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento de semeadura	41
Figura 20 - Aspecto de espiga tratada com <i>Trichoderma</i> 10% no experimento de semeadura, atacada pelo fungo <i>Ustilago maydis</i> (DC)	42
Figura 21 - Correlação temperatura e precipitação durante o ciclo de plantio.	42
Figura 22 - Aspectos de plantas expostas a temperatura e umidade.....	59
Figura 23 - Avistamento de pragas	59
Figura 24 - Aspecto de plântulas tratadas com <i>Trichoderma</i>	59

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Parâmetros analisados após a colheita de milho (120 dias)	32
---	-----------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração de microrganismos após diluição.	28
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Organização para a Alimentação e Agricultura
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IPARDES	Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social.
IAPAR	Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
ppb	Parte Por Bilhão
RAS	Regras para Análise de Sementes
SENAR	Serviço Nacional de Aprendizagem Rural
USEPA	United States Environmental Protection Agency

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	JUSTIFICATIVA	16
4	REVISÃO DE LITERATURA	17
4.1	Uso de fertilizantes na agricultura	17
4.2	Microrganismos na agricultura	18
4.2.1	Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal	19
4.2.2	Azospirillum brasilense	20
4.2.3	Bacillus subtilis	21
4.3	Fungos promotores de crescimento vegetal	23
4.3.1	Trichoderma asperellum	22
4.4	Variáveis que influenciam na cultura do milho	23
5	MATERIAIS E MÉTODOS	26
5.1	Teste de germinação	27
5.2	Teste de semeadura em campo	30
6	RESULTADOS	33
6.1	Massa fresca de plúmulas, radículas e total de plântulas.	34
6.1.1	Massa seca de plúmulas, radículas e total de plântulas.....	36
6.2	Altura das plantas, comprimento de raízes, o número de folhas por planta e número de espigas	39
6.2.1	Massa Fresca da raízes, espigas e total das plantas. Massa Seca da raízes, espigas, e total das plantas.....	39
6.3	Temperatura e precipitação	42
7	DISCUSSÃO	43
8	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50
	APÊNDICE A - Fotografias	58

1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos e o desenvolvimento tecnológico são questões determinantes nas esferas sociais e geopolítica de um país (LIMA, 2017). Há uma constante busca do homem em superar a escassez de recursos e com isso, a economia atual tem se empenhado no aperfeiçoamento de tecnologias buscando garantir a continuidade das próximas gerações (EHLERS, 2017).

A projeção populacional para o ano de 2050 é de 9,8 bilhões de pessoas e o Brasil será um dos principais países fornecedores de alimentos para o mundo (FAO, 2019). Portanto, se faz necessário buscar por tecnologias que solucionem algumas das principais mazelas que acometem agricultura brasileira, como a intensidade no uso de fertilizantes responsável por causar efeitos crônicos principalmente em cidades produtoras de grãos (PANIS et al., 2022), além de altas porcentagens de perdas nos sistemas de produção, ação de patógenos e por fim aumento de área plantada (EMBRAPA, 2016).

Entre os principais insumos consumidos e exportados pelo Brasil, o milho - *Zea mays* (L.), é o oitavo alimento mais consumido no mundo (AGUIAR, 2016). Além disso, é considerado um dos grãos mais expressivos por suas características fisiológicas (CRUZ, FILHO I., FILHO M., 2021) e pela sua diversidade de aplicação, são mais de 150 produtos diferentes (STRAZZI, 2015). Embora a cultura possua um alto potencial de produção, a nível nacional essa produtividade ainda tem sido considerada baixa, demonstrando que os sistemas de produção ainda precisam ser aprimorados (FILHO et al., 2015). Nos últimos dez anos a produção mundial de milho aumentou 35,14%, o Brasil foi responsável por 8% da produção mundial e juntamente com Estados Unidos e China, compõem 57% da produção global (CONAB, 2018).

Estima-se que 50% da agricultura mundial dependa do uso de fertilizantes nitrogenados (CABRERA et al., 2012) embora o uso desse insumo tenha sua proeminência, o grande impasse está na aplicação sem o rigor técnico. Os produtores muitas vezes no anseio de uma melhora em sua produção, fazem uso desse recurso de forma desacerta e involuntariamente impactam o solo de suas propriedades, afetando a biota, aumentando a concentração de nitrato no solo e encarecendo a sua produção (COELHO et al., 2014).

Conjuntamente, a ação de patógenos nas culturas também são responsáveis por prejuízos econômicos consideráveis (GABARDO et al., 2020). O uso de inseticidas

e fungicidas como método de controle mais utilizado contra esses agentes infecciosos podem a longo prazo induzir a resistência desses organismos, não auxiliando na resolução total dos problemas (ES-SOUFI et al., 2020). Como alternativa a essas conjunturas, pesquisas na área da Biotecnologia, em especial a microbiologia na agricultura, têm se mostrado bonançosa (CABRERA et al., 2012).

A adoção pelo uso de insumos biológicos na agricultura nos últimos anos, tem se mostrado uma alternativa para a substituição parcial ou total de fertilizantes minerais (YAMILETH, 2019), pois quando inoculados em sementes, pulverizados nas culturas ou aplicados no solo, têm auxiliado na nutrição, proteção, solubilização de elementos minerais essenciais às plantas (CHANDINI, KUMAR, KUMAR R., 2019). Entre os principais microrganismos estudados na agricultura moderna, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* têm sido amplamente pesquisados devido a sua efetividade nos sistemas de produção (EMBRAPA, 2020).

A inoculação da bactéria *Azospirillum brasilense* em espécies de gramíneas têm promovido um aumento na produção de matéria seca, acúmulo de nitrogênio e melhor desenvolvimento de raízes (MAZZUCHELLI, SOSSAI e ARAÚJO, 2014). Do mesmo modo, a bactéria *Bacillus subtilis*, tem sido eficaz no controle de nematóides (OLIVEIRA et al., 2017) e reduzindo estresses bióticos (DORIGHELLO et al., 2020). Os fungos do gênero *Trichoderma* são conhecidos pela capacidade de colonizar diferentes tipos de substratos (ISAIAS et al., 2014) e por sua atuação antagonista parasitando em outros fungos patógenos (MEYER, MAZARO e SILVA, 2019).

De modo geral, para que se alcance uma excelência na produção de qualquer cultura, o aperfeiçoamento dos sistemas de produção e a integração de técnicas devem ser sempre aprimoradas. Portanto se faz necessário o estudo de técnicas que permitam aos cultivares expressarem o máximo do seu potencial genético e com isso alcançarem maiores produtividades.

O objetivo desta pesquisa consiste em verificar os efeitos dos microrganismos *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* na germinação e na semeadura de *Zea mays* (L.).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Verificar o efeito dos microrganismos *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* na germinação e semeadura de sementes de *Zea mays* (L.).

2.2 Objetivos Específicos

- I. Mensurar a Taxa de Germinação, Índice de Velocidade de Germinação e Tempo Médio de Germinação de plântulas germinadas;
- II. Pesquisar a Massa Fresca da radícula, plúmulas e total de plântulas, assim como, a Massa Seca da radícula, plúmula e total de plântulas de plântulas;
- III. Medir a altura das plantas, comprimento de raízes, o número de folhas por planta e o número de espigas ao final do plantio;
- IV. Pesquisar a Massa fresca da raiz, espigas e total das plantas, Massa seca da raízes espigas e total das plantas;
- V. Relacionar a temperatura média e o nível de precipitação durante o ciclo de plantio.

3 JUSTIFICATIVA

Embora a Revolução verde tenha trazido a modernização da agricultura e a introdução de novas tecnologias em escala global (REZENDE et al., 2021), nos últimos dez anos houve um aumento no uso de fertilizantes na América Latina e Caribe, predomínio de monoculturas (REYES e CORTÉS, 2016) e a expansão em 15,88% no uso de terras destinadas ao plantio. Cerca de um terço dos solos globais estão em situação de degradação, gerando impactos nocivos à produção de alimentos (CONAB, 2018).

A ideia de agricultura sustentável que se têm, são exemplos de casos isolados possuem relação direta aos critérios socioambientais, portanto há uma necessidade em consolidar técnicas efetivas (EHLERS, 2017). Um terço da agricultura global é produzida por agricultores com propriedades inferiores a 2 hectares, o grande desafio está na adoção de novas estratégias de cultivo, incentivadas por políticas públicas dispostas a apoiar esses agricultores, melhorando a sua subsistência rural, assegurando padrões saudáveis à saúde humana, promovendo a importância da diversidade biológica e a estabilidade agrícola a nível internacional (FAO, 2021).

Em função disso, as pesquisas biotecnológicas têm buscado por alternativas que maximizem o potencial das culturas sem comprometimento de novas áreas. A construção de frameworks pode auxiliar na implementação de sistemas de produção mais sustentáveis, modernos, menos nocivos e mais inclusivos (CABRERA et al., 2012). Contudo, é necessário que as entidades responsáveis pela regulamentação de novos produtos e novas descobertas estejam atentas ao avanço das pesquisas (SILVA et al., 2019).

Os processos nutrição, adubação e manejo de pragas, são recursos essenciais e a nível nacional representam 37,21% de gastos ao produtor (CONAB, 2018), além disso grande parte destes insumos, são de origem estrangeira. Em contrapartida, ensaios feitos com insumos biológicos têm demonstrado contribuições no aporte de nutrientes essenciais às plantas, melhorando a fertilidade do solo, controle de pragas e na redução de custos a médio e longo prazo (EMBRAPA, 2020).

Com isso torna-se imprescindível pesquisa por novos insumos, que tragam ganhos para o setor agrícola brasileiro e para o meio ambiente, que atendam às exigências da sociedade atual, cumprindo assim, as diretrizes propostas no Objetivo de Desenvolvimento Sustentável ODS 12.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Uso de fertilizantes na agricultura

São considerados fertilizantes os insumos que contenham pelo menos 5% dos três macronutrientes primários: Nitrogênio (N), Fósforo (P) e Potássio (K), pois as plantas requerem mais desses elementos para manter suas funções celulares, os macronutrientes secundários e micronutrientes são requeridos em quantidades menores auxiliando na manutenção e sobrevivência das plantas (CHANDINI et al., 2019).

Devido as características físico-químicas dos solos brasílicos, são importados 85% dos fertilizantes, principalmente os elementos Nitrogênio, Fósforo e Potássio. Em 2021 foram importados N (29%), P (33%), K (38%) deixando o país totalmente à mercê do preço do dólar refletindo em custos maiores aos produtores e ao consumidor (BRASIL, 2021). Em média são requeridos 80 kg de nitrogênio para a produção média de 1 tonelada de grãos de milho, os solos brasileiros fornecem apenas entre 10kg a 15kg de nitrogênio, as demais fontes são advindas de adubações nitrogenadas e pela Fixação Biológica de Nitrogênio (BORDIGA, 2022).

Em condições ideais as plantas utilizam apenas 50% dos fertilizantes para compor sua nutrição, cerca de 2 a 20% deste produto volatiliza, 15 a 25% reage com outros compostos orgânicos e por fim de 2 a 10% acaba sendo lixiviado para as águas superficiais ou subterrâneas (FEIGIN e HALEVY, 1989). Além disso, o nível de nutrientes no solo é reduzido à medida que as culturas são recolhidas e essa ausência é então restabelecida por uma nova adubação ou pelo processo de decomposição natural das plantas (CHANDINI et al., 2019).

Quando são aplicados nas doses recomendadas, os fertilizantes podem trazer resultados benéficos às culturas. No experimento de Souza, Farinelli, Rosolem (2007) foi notado um crescimento vigoroso no sistema radicular e na parte aérea em plantas de algodoeiro em adubação fosfatada aplicada 5 cm abaixo das sementes. Um ensaio feito por Armendáriz, Ócon e Rodrigues (2012) no córrego La Chozza na Argentina, resultou em benefícios ao ecossistema local, foi observado que a adição de fertilizantes nitrogenados em uma pequena área do córrego, promoveu um aumento na abundância de biomassa/m² de diferentes espécies de anelídeos, indicando uma correlação positiva entre a densidade de oligoquetas e a concentração de NH_3 e NH_4 . Por fim, uma pesquisa feita por Albaugh et al., (2015) em florestas de eucaliptos

adubadas com fertilizantes nitrogenados, verificaram uma melhora nas taxas de crescimento de plantas e na estabilização do solo as margens de rios.

Por outro lado, estudos também comprovam que concentrações de nitrato acima de $50 \text{ NO}_3 / \text{L}$ em corpos hídricos podem levar a síndrome do bebê azul em humanos, em ruminantes pode causar câncer gástrico, além disso, elevam a acidificação do solo e aumentam a resistência de plantas daninhas (USEPA, 2007). Grande parte dos defensivos agrícolas possuem um alto teor de metais pesados como: Cu, Cd, Pb, Hg que podem por inibir a atividade dos microrganismos naturais presente no solo (ALVAREZ et al., 2018). São tóxicos aos organismos responsáveis pela colonização micorrízica de raízes, inibem a fixação simbiótica de nitrogênio feita por rizóbios, promovem o aumento de gases de efeito estufa CHANDNI et al., (2019).

O estado do Paraná é o segundo maior produtor de grãos no país, são 127 cidades produtoras que juntas obtiveram uma quantidade de contaminação 189,84 ppb, muito acima dos limites estabelecidos pela União Européia 0,5 ppb (PANIS et al., 2022). Além disso, segundo o Inca (2020) o estado integra uma das cinco unidades federativas com maior incidência de câncer. As mudanças no perfil de consumo populacional, os realces dos problemas ambientais e a necessidade de melhoria nos sistemas de produção, têm impulsionado o mercado agrícola nacional e internacional a produzirem insumos que contribuam com melhores estratégias para uma adubação equilibrada.

4.2 Microrganismos na agricultura

As práticas tradicionais de manejo do solo, como rotação de culturas ou plantio de cobertura, não têm sido suficientes para mitigar os impactos gerados no solo em áreas de cultivo (REZENDE et al., 2021). Essa lacuna, têm sido preenchida nos últimos anos com pesquisas relativa ao uso de microrganismos multifuncionais como Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Vegetais - RPCP (endossimbióticos ou não endossimbióticos) e Fungos Micorrízicos - FM (DU JARDIN, 2015).

Esses organismos possuem a capacidade de colonização de estruturas como a filosfera, rizosfera, rizoplano, e endosfera, compondo assim uma estratégia de manejo integrado (YAMILETH, 2019), além disso contribuem com a economia verde, além de grande parte desses organismos serem nativos do solo.

Ao contrário dos fertilizantes que podem ou não ser assimiláveis no meio, uma vez inseridos esses microrganismos possuem ampla capacidade de adaptação (VÁZQUEZ et al., 2019) e juntamente com as plantas, constituem-se um microbioma (SANTOS et al., 2016). Quando inoculados, podem viver associados ou em simbiose, entretanto, sua população pode ser diretamente afetada pelo o manejo do solo (CABRERA et al., 2012).

Em plantas da família Poaceae as relações microbiológicas que predominam são associativas e endofíticas, onde as bactérias excretam apenas uma parte do nitrogênio não suprimindo a necessidade total das plantas (EMBRAPA, 2011). Entretanto, devido ao formato de suas raízes, as gramíneas podem retirar com mais facilidade água e nutrientes do solo (MILLÉO e CRISTÓFOLI, 2016).

4.2.1 Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal

São microrganismos antagônicos nativos do solo, não patogênicos com potencial uso agrícola. Podem ser de vida livre, viverem em associação ou em endossimbiose (EMBRAPA, 2020). Para entrarem nesta classificação esses organismos precisam ter a capacidade de colonizar a rizosfera, os tecidos internos ou o interior das células vegetais, além disso, multiplicar e ser capaz de competir por espaço e nutrientes durante o seu ciclo de atividade (SILVA et al., 2021).

Geralmente o sucesso no uso destes organismos provém de co-inoculação (RESENDE et al., 2021) ou seja, combinação de microrganismos, para que desta forma a abrangência de atuação seja maior. Além disso, podem ser classificadas como eRPCV (Rizobactérias Promotoras De Crescimento Vegetal Extracelulares) e iRPCV (Rizobactérias Promotoras De Crescimento Vegetal Intracelulares). Além disso, os hormônios produzidos por essas bactérias podem ter ação estimulantes, agindo localmente como a Resistência Sistêmica Adquirida - SAR ou na estrutura completa da planta, conhecido como Resistência Sistêmica Induzida - ISR (BUENO, 2022).

Podem apresentar ações bioestimulantes (RESENDE et al., 2021; ROSIELO, 2017) através de mecanismos diretos como absorção de nutrientes, secreção de sideróforos, fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção de fitohormônios como auxinas, citocinas, giberilinas, etileno ou mecanismos indiretos como biocontrole, ações antagonistas, indução de resistência sistêmica, resistência a deficit hídrico e a salinidade, exposição a metais pesados (CABRERA et al., 2012),

promovem o aumento no sistema radicular e reduzem níveis de nitrato quando atuam no interior dos tecidos vegetais (YAMALETH, 2019).

Sabe-se que o nitrogênio é um elemento determinante no crescimento vegetal (RESENDE et al., 2021) poucos animais e plantas são capazes de utilizar esse nutriente, contudo, este elemento é aproveitado pelas Rizobactérias Promotoras De Crescimento De Plantas Diazotróficas, que possuem a enzima dinitrogenase, capaz de romper a tripla ligação transformando-a em amônia e a disponibilizando-a no meio (HUNGRIA, CAMPO, MENDES, 2007). Além do nitrogênio, o fósforo é outro nutriente essencial às plantas participando de diversas funções fisiológicas, as rizobactérias são fundamentais na solubilização desse nutriente, deixando-o disponível em forma orgânica.

4.2.2 *Azospirillum brasilense*

São Rizobactérias extracelulares de vida livre, gram negativo (SANTOS et al., 2016), podem ser endolíticos facultativos (EMBRAPA, 2011). Atualmente, há 12 espécies do gênero *Azospirillum*, grande parte desses organismos são encontrados em raízes de plantas cultivadas ou selváticas e em solos de regiões de clima tropical e subtropical, estima-se que a contribuição de *Azospirillum* na cultura do milho esteja entre 10 kg de nitrogênio por ano (GÓMEZ et al., 2014).

A temperatura ideal para o seu desenvolvimento é 25°C a 30°C e o pH do solo em média 5.5, dentre os nutrientes fornecidos pelo *Azospirillum* às plantas, destacam-se absorção de fósforo e potássio aumento no número de pêlos radiculares, comprimento de raízes laterais e peso seco de raízes (EMBRAPA, 2015). Estes organismos colonizam a superfície das raízes de plantas, o exterior do córtex ou os tecidos internos por meio da degradação de alguns componentes da parede celular ainda não conhecidos, podem fixar nitrogênio na planta hospedeira quando em vida livre ou em simbiose (EMBRAPA, 2011).

Entre os fitohormônios sintetizados pelas cepas de *Azospirillum*, temos: etileno, citocinas, giberelinas, auxinas, além de algumas substâncias bactericidas e fungicidas. Nos vegetais, estudos apontam a capacidade de resistirem ambientes com pH extremos, exposição a metais pesados e solos salinos (GÓMEZ et al., 2014).

Os autores Barassi et al., (2008) analisando a ação desses microrganismos na cultura de trigo contribuíram com seus trabalhos demonstrando uma melhor condutância estomática nos tecidos vegetais, além de um aumento na quantidade de

prolina, maior elasticidade na parede celular e aumento no teor da clorofila a, b. A autora Hungria et al., (2011) verificou um aumento no número de frutos, maior rendimento e melhor aporte nos teores de potássio e fósforo em grãos de trigo e milho (após cultura da soja). Entre as culturas recomendadas para o uso do microrganismo destacam-se: trigo, milho e arroz (MAPA, 2011).

4.2.3 *Bacillus subtilis*

Microrganismo gram positivo que se destaca pela formação de uma estrutura dormente inativa não reprodutiva (SANTOS et al., 2016), porém resistente conhecida como endósporo bacteriano que garante a sobrevivência desse grupo em períodos de estresse ambiental (PHILIPPOT et al., 2013). Têm sido efetiva no e controle de doenças causadas por várias espécies de patógenos, pois formam uma zona de inibição e induzindo a resistência do hospedeiro (D'AGOSTINO, MORANDI, 2009). É importante salientar também que essa bactéria possui esporos com propriedades resistentes á altas temperatura, baixa umidade, locais pobres em nutrientes, secas, exposição a solventes químicos e radiação ultravioleta, além da formação de biofilme (DE SOUSA et al., 2014).

O autores Lei et al., (2015) citam que esse microrganismo pode ser utilizado na dieta de animais, melhorando a microbiota intestinal e contribuindo numa melhor assimilação de nutrientes. Em contrapartida, Falahati-Pour et al., (2015) utilizaram a estirpe *B.subtilis* na descontaminação de ambientes contaminados com pesticidas organofosforados. E por fim, de acordo com Mou et al., (2016), construíram uma cepa recombinante de *Bacillus subtilis* (BS-HA), capaz de expressar a proteína responsável por imunizar galinhas com gripe aviária, o autor observou também um aumento considerável no peso das aves, indicando que houve uma resposta imune sistêmica.

Entre os mecanismos de atuação da *B.subtilis* em plantas, a solubilização de fosfatos, produção de sideróforos, fixação de nitrogênio biológico, produção de fitohormônios, atividade antifúngica, simbiose entre plantas estão sendo amplamente estudadas (YAMILETH, 2019). Atualmente existem apenas 6 produtos registrados no MAPA à base de *B. subtilis*, voltados ao controle de bactérias, fungos e nematóides (EMBRAPA, 2020). Segundo Mapa (2011) entre as principais culturas recomendadas são: Eucalipto.

4.3 Fungos promotores de crescimento vegetal

Possuem a capacidade de colonizar a rizosfera e parte aérea de plantas, além de possuírem diferentes mecanismos de controle como parasitismos, hiper parasitismo, antibiose, competição, indução de resistência em plantas hospedeiras (YAMILETH, 2019). Entre as ações de atuação dos fungos, destacam-se as associações micorrizicas.

Existem dois tipos de micorrizas ectomicorrizas quando essas associações se desenvolvem no exterior da planta hospedeira e endomicorrizas ou micorrizas arbuscular mais difundidas onde, o sucesso desta junção com os vegetais depende de diversos fatores, como pH, temperatura, condições e manejo do solo (MEYER, MAZARO, SILVA, 2019). Estudos têm verificado a efetividade das micorrizas em solos de baixa fertilidade, no entanto, estudos sobre a efetividade dessa associação ainda estão em andamento (MORO, 2018).

Alguns estudos verificaram incrementos no rendimento de grãos na cultura da soja, milho. Os autores Pereira et al., (2021) em seus ensaios sobre colonizações de micorrizas, concluíram que o manejo do solo, como o revolvimento afeta fortemente a produção de esporos de fungos micorrízicos, assim como a inserção de adubação verde de outros vegetais pode contribuir numa melhor colonização.

Entre os fungos mais conhecidos desta categoria estão os do gênero *Trichoderma* spp. capazes de disponibilizar fosfatos através de mecanismos como a mineralização, além de decompor restos de materiais no solo (RESENDE et al., 2021).

4.3.1 *Trichoderma asperellum*

O gênero *Trichoderma* é formado por um grupo de fungos saprófitos filamentosos (YAMILETH, 2019), a temperatura ideal para o seu desenvolvimento é 25°C (SILVA et al., 2012) com o pH variando de 4.5 a 5.5 e a umidade do ar em torno de 60%. Dentre os benefícios fornecidos as plantas por esses microrganismos são polissacarídeos, inibição da atividade de nematóides (MEYER, MAZARO, SILVA, 2019). Pesquisas realizadas observaram que em algumas culturas, esses organismos promovem uma emergência mais rápida de plântulas, aceleram a maturidade do período de floração, aumentam a quantidade folhas por planta, aumentam o tamanho

de frutos, além de fornecer um ciclo de vida mais alongado aos vegetais (SÁNCHEZ, 2019; YAMILETH, 2019).

Diferente das bactérias citadas anteriormente, a relação predominante entre fungo e planta é o processo de micorrizas, onde o mutualismo e a simbiose compreendem a 90% da relações (YAMILETH, 2019).

Os autores Eleonora e Pineda (2015) relataram que algumas espécies de *Thichoderma* são capazes de sintetizar o ácido 3- indol acético (AIA), composto que atua como hormônio vegetal fundamental em vários processos fisiológicos como divisão celular, desenvolvimento do sistema radicular, além de respostas à luz e a gravidade. Hardoim et al., (2008) observaram uma redução no pH do solo e a síntese de substâncias promotoras de crescimento como auxinas e giberelinas, além disso verificaram que os fungos deste gênero também são responsáveis por bloquear sítios de infecção de patógenos já que competem entre si na colonização da rizosfera. Por fim, Yamileth (2019) cita que esses microrganismos produzem elicitores, ou seja, compostos que promovem a defesa de plantas contra patógenos e que seus principais mecanismos de solubilização do fósforo são: produção de ácidos orgânicos, mineralização, fosfatases, produção de enzimas fitase responsável pela liberação de íons em sementes de plantas.

Segundo o Instituto Biológico (2014) entre as principais beneficiadas são: Algodão, milho, café, trigo, entre outros.

4.4 Variáveis que influenciam no plantio de *Zea mays* (L.)

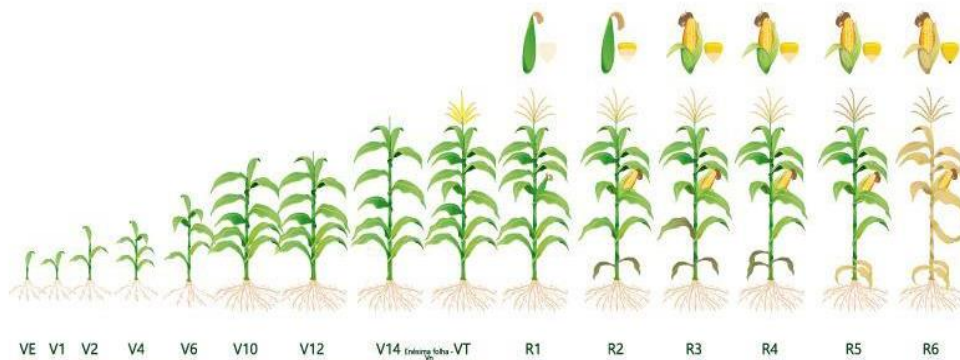
Zea mays (L.), popularmente conhecido como milho é uma gramínea pertencente à família *Poaceae*, têm sua origem na América central e possui sete gêneros (FLORA DO BRASIL, 2020) e compõem o grupo de plantas C4 e portanto, uma redução de 30% a 40% de luz, pode atrasar os processos de germinação ou resultar em quedas de produção. Grande parte da massa seca do milho provém da fixação de CO₂ pelo processo de fotossíntese (EMBRAPA, 2015).

Os aspectos vegetativos e reprodutivos da planta são suscetíveis as diferenças edafoclimáticas (MOTA, 2015). É uma das plantas com grande capacidade de armazenamento de fotossimilação e altamente energética (EMBRAPA, 2011). De modo geral é comum buscar sementes resistentes às condições extremas antes da

definição da densidade de plantio (grãos/m²) nas lavouras brasileiras (EMBRAPA, 2007).

Cerca 56% da produção total de milho no Brasil é feita por pequenos agricultores (SORDI, 2020) e 70% da produção é destinada à alimentação, (BORDIGA, 2022). O desenvolvimento desta planta ocorre em dois estádios: Vegetativo (V) evidenciado pelos fenótipos, número de folhas e Reprodutivo (R) caracterizado pelo surgimento e o desenvolvimento de grãos e da espiga (EMBRAPA, 2015) (Figura 1).

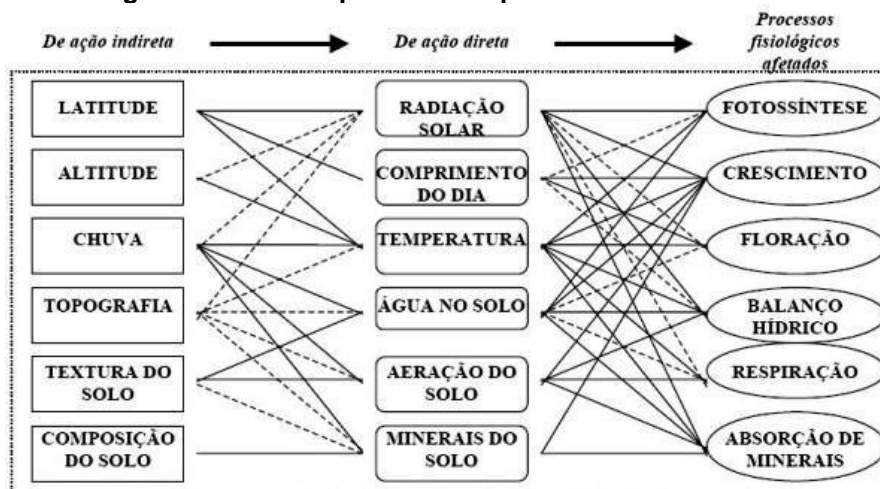
Figura 1 - Estágios de desenvolvimento do milho



Fonte: Sementes Biomatrix (2021, pag.3).

O manejo do solo é um fator importante, pois em áreas de exploração mais intensa, o solo tende a apresentar alterações na sua composição o que reflete diretamente na produtividade (DURÃES, 2007) (Figura 2).

Figura 2 - Fatores que afetam a produtividade do milho.



Fonte: Durães e Alvim (2007, p.4).

Segundo Embrapa (2015), entre os fatores que podem afetar os processos fisiológicos da cultura do milho, temos:

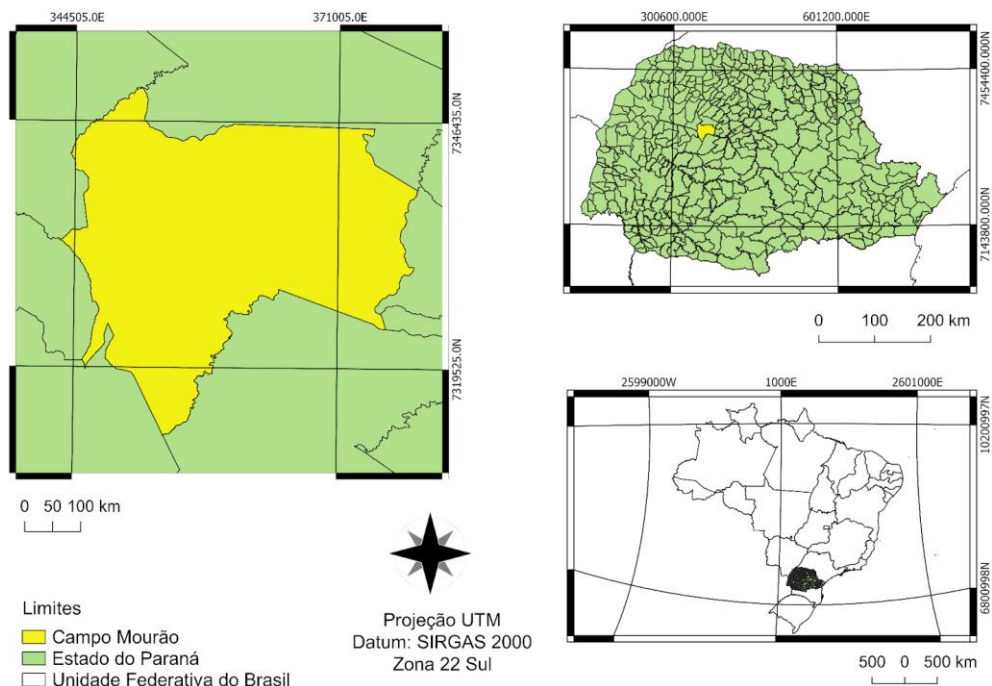
- Solo: Deve-se considerar características como textura, relevo e declividade;
- Temperatura: Entre 25°C a 30°C durante o dia e 16°C a 19°C no período noturno;
- Precipitação: São requeridos no mínimo 600mm de água pela planta durante o seu ciclo, a falta de umidade no solo reduz a atividade metabólica, afeta a produção de grãos e nos índices de biomassa;
- Radiação solar: No Brasil, as plantas de milho tendem a apresentar comportamentos fotoneutro, entretanto, reduções na radiação pode impactar as atividades metabólicas da planta e na produtividade;
- Época de semeadura: Períodos próximos a época de floração, contudo é necessário acompanhar os calendários de semeadura e colheita pois podem ocorrer variações regionais;
- Profundidade de semeadura: Em solos bem drenados, a profundidade recomendada é de 3 cm a 5 cm de profundidade. Em solos argilosos pode variar entre 5 cm a 7cm. Quando estabelecidas, as raízes das plantas podem alcançar 1 m de profundidade;

Além disso, o espaçamento entre fileiras e a densidade populacional, também devem ser consideradas. No Brasil o ciclo de produção entre semeadura e colheita pode variar de 110 a 180 dias, podendo variar de acordo com as características dos genótipos (BORDIGA, 2022).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Este ensaio foi desenvolvido entre os meses de junho de 2021 e janeiro de 2022 nas dependências do campus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná de Campo Mourão (Figura 3). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia Molecular e Microbiologia do Solo e na horta experimental do próprio campus.

Figura 3 - Mapa de localização do Município de Campo Mourão – Paraná



Fonte: Autoria própria (2022). Elaboração: Malha territorial do Brasil do IBGE (2021) e software Qgis versão 3.18.

A cidade de Campo Mourão está situada na mesorregião centro ocidental paranaense nas coordenadas geográficas 24°02'28"S, 52°22'52"W, a uma altitude de 598 m (IPARDES, 2021). Segundo a classificação de Köppen, o clima do município é do tipo Cfa - Subtropical Mesotérmico Úmido e a temperatura média anual é de 22°C e a precipitação média anual é de 1700 mm (IAPAR, 2019).

O solo da região é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico sendo esta tipologia de solo responsável por grande parte da produção de grãos no Brasil (EMBRAPA, 2013). A agricultura e pecuária correspondem a uma das principais atividades econômicas de Campo Mourão (IPARDES, 2022) contribuindo de maneira

significativa com o Produto Interno Bruto com destaque para as culturas temporárias de milho, soja, trigo e feijão.

As sementes utilizadas neste estudo foram de origem orgânica e pertencem ao cultivar Caimbé de ciclo semiprecoce da safra 2019/2020, possuem um grau de pureza mínima de 98% e um peso médio de 0,382g por grão. Esta espécie é recomendada pela Embrapa para plantio nos períodos de safra e safrinha nas regiões Sul, Centro Oeste, Sudeste e Nordeste do Brasil. No estado do Paraná, as regiões recomendadas para o plantio são Norte, Noroeste e Oeste.

Segundo Santos e Tivelli (2017) a planta desta cultivar apresenta uma altura média de 2.15 m com a inserção da espiga a partir de 1.10 m e dentre suas principais características, destacam-se boa resistência ao acamamento, grãos semiduros e coloração amarelo-alaranjado.

5.1 Teste de germinação

No teste de germinação foram utilizados os microrganismos *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum*, fornecidos pela empresa CELF - Energias Renováveis e Bioenergias, nas respectivas concentrações de 1×10^9 UFC/ml, 1×10^{10} UFC/ml e 1×10^8 UFC/ml.

Os inóculos foram diluídos para as concentrações de 1%, 5% e 10%, com base na metodologia proposta por Scatambulo (2017). O preparo dos inóculos ocorreu com base no método de diluição seriada, foram utilizados separadamente 10ml, 50ml e 100ml de cada inoculante dissolvidos respectivamente em 990ml, 950ml e 900ml de água destilada. Após as diluições, foram calculadas as concentrações finais dos inoculantes utilizando a equação de diluição:

$$C_1 \times v_1 = C_2 \times v_2 \quad (1)$$

C_1 = Concentração inicial do soluto em UFC/ml;

V_1 = Volume inicial da solução em ml;

C_2 = Concentração final do soluto em UFC/ml;

V_2 = Volume final da solução em ml.

Após a resolução dos cálculos foram obtidos os inoculantes nas dosagens de 1%, 5% e 10% e as concentrações finais de cada microrganismo, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração de microrganismos após diluição.

Tratamento	C_{1%} (ufc/ml)	C_{5%} (ufc/ml)	C_{10%} (ufc/ml)
<i>A. brasilense</i>	1×10^6	50×10^6	100×10^6
<i>B. subtilis</i>	100×10^6	500×10^6	1×10^6
<i>T. asperellum</i>	1×10^6	5×10^6	10×10^6

Fonte: Autoria própria (2021).

O teste de Germinação foi conduzido em um delineamento experimental casualizado, utilizando quatro tratamentos:

T_0 : Testemunha, sementes tratadas apenas com água destilada;

T_1 : Sementes tratadas com *A. brasilense* nas dosagens de 1%,5% e 10%;

T_2 : Sementes tratadas com *B. subtilis* nas dosagens de 1%,5% e 10%;

T_3 : Sementes tratadas com *T. asperellum* nas dosagens de 1%,5% e 10%.

Foram dispostas, em cada placa de petri, cinco sementes cobertas com papel toalha e armazenadas em câmara de germinação do tipo B.O.D MARCONI 500W, a uma temperatura de 26°C e fotoperíodo de 12 horas. Cada placa recebeu 1 ml do tratamento correspondente e, em dias alternados, 18 ml de água destilada, pelo período de 7 dias. Foram realizadas três repetições, com 20 sementes para cada substrato e 60 sementes para cada concentração dos inóculos.

O desempenho germinativo das sementes de milho foi analisado com base na Regra de Análises de Sementes (BRASIL, 2009; FILHO e CARVALHO, 2009; EMBRAPA, 2016), considerando apenas plantas normais com todas as estruturas essenciais presentes e pelo menos 3 cm de comprimento. Foram verificadas:

- ✓ Taxa de germinação (TG) que é calculada com base na fórmula:

$$TG = \frac{N}{100} \times 100 \quad (2)$$

N = Número de sementes germinadas no período final do teste.

- ✓ Índice de velocidade de germinação (IVG), expresso pela fórmula:

$$IVG = \sum_{N=1}^N \left(\frac{N_i}{D_i} \right) \quad (3)$$

N_i = Número de sementes germinadas diariamente.

D_i = Tempo em dias, após o início do teste

- ✓ Tempo médio de germinação (TMG), expresso em dias, é dado pela fórmula:

$$TMG = \frac{\sum_{i=1}^k N_i T_i}{\sum_{i=1}^k N_i} \quad (4)$$

K = Último contagem de germinação (dia);

N_i = Número de sementes que germinaram no tempo t_i ;

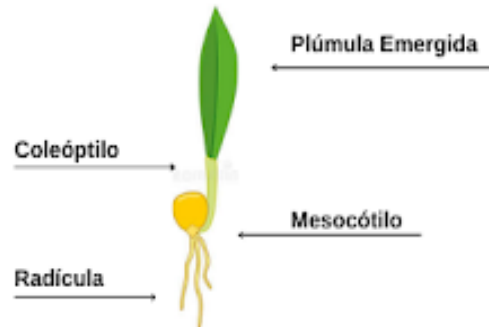
T_i = tempo dias do início do teste até a sua finalização.

- ✓ Massa Fresca das plúmulas, raízes e total das plântulas foram pesadas em balança analítica de precisão MARTE AY220 (LACERDA et al., 2011);
- ✓ Após a pesagem da massa fresca, as estruturas das plântulas foram acondicionadas em envelopes de papel kraft e armazenadas em estufa de secagem MAROLABOR 1000W, a 65°C por 72 horas e pesadas novamente.

Para averigar a evolução dos tratamentos, os dados foram submetidos ao gráfico de linhas no programa excel e ao teste de estatístico paramétrico anova One way com Dunnett a posteriori com 5% significância. Para dados não paramétricos foi utilizado o teste de Kruskal - Wallis com 5% de significância, ambos os testes foram realizados no programa past.

A estrutura das plântulas analisadas no teste de germinação pode ser observada na (Figura 4).

Figura 4 - Fenologia de plântulas de milho.



Fonte: Imagem de ©Luayana, descrição autoria própria (2021, p.1).

5.2 Teste de semeadura em campo

O planejamento de plantio foi baseado no calendário agrícola para a região noroeste do estado do Paraná conforme as diretrizes propostas pela CONAB (2020/21) a fim de garantir uma melhor integração entre a cultura, o inoculante, o clima e a região de plantio, possibilitando dessa forma melhor produtividade.

Para a primeira safra a janela de plantio foi de outubro a dezembro (primavera) e a colheita prevista para os meses de janeiro a março (verão). Antes da semeadura as sementes passaram por uma pré-seleção para remoção de grãos fermentados, ardidos ou quebradiços com base no Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR, 2017).

Na etapa de semeadura foi utilizado apenas o microrganismo *Trichoderma asperellum* em quatro canteiros experimentais, que juntos representam uma área total de 12 m². Os tratamentos para etapa de semeadura foram:

S0: Canteiro Testemunha, sementes e parte aérea tratadas apenas com água;

S1: Sementes e parte aérea tratadas com *Trichoderma* 1% ;

S2: Sementes e parte aérea tratadas com *Trichoderma* 5%;

S3: Sementes e parte aérea tratadas com *Trichoderma* 10%.

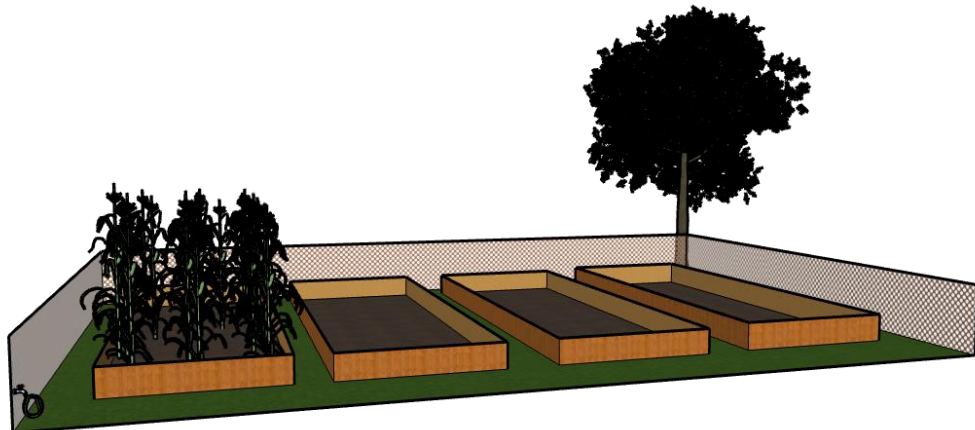
Além disso, foi realizado um pré-tratamento nas sementes de milho de acordo com as dosagens de 1%, 5% e 10% do inoculante, com exceção das sementes utilizadas no canteiro testemunha. Para isso foi preparado uma solução açucarada 10% (10,8 ml) e inoculadas 7,2 ml do inóculo correspondente a cada dosagem adotada, com base na metodologia proposta por Bulla e Júnior (2012). Á esta solução

foram adicionada às sementes utilizadas no plantio e agitadas em mesa agitadora por 30 minutos uma hora antes do plantio, conforme metodologia proposta e adaptada (EMBRAPA, 2011).

As amostras do solo das áreas experimentais não foram submetidas a caracterização química. A adubação nitrogenada ocorreu conforme a metodologia de semeadura proposta pela Embrapa (2015) sendo aplicados a primeira dose na semeadura e a segunda dose na etapa de florescimento que antecede o enchimento de grãos (BORDIGA, 2022).

A quantidade de sementes plantadas em cada canteiro, foi calculada de acordo com a metodologia de semeadura e plantio proposta pela Embrapa (2011). Adotou-se um valor de 436 sementes para os quatro canteiros e adicionados 10% no caso de possíveis perdas, considerando a taxa de germinação de 85% dada pelo fornecedor e um espaçamento de 0,30m foi obtido um valor de 15 sementes/metro quadrado. O estágio vegetativo analisado foi até o período reprodutivo - R5. A disposição dos canteiros pode ser observada na (Figura 5).

Figura 5 - Disposição dos canteiros experimentais



Fonte: Autoria própria (2022). Elaboração: software SketchUp versão 2022.

Na fase de semeadura foi possível verificar o desempenho da planta em seu ciclo semi completo (120 dias) e de que maneira os tratamentos aplicados, interferiram nos parâmetros de massa fresca, massa seca, altura das plantas e no crescimento e peso das espigas, conforme pode ser observado no Quadro 1.

Por fim, os dados de fatores climáticos, temperatura e precipitação que ocorreram durante o período de semeadura até a colheita, foram obtidos do Instituto Águas do Paraná (ÁGUAS PARANÁ, 2021).

Quadro 1 - Parâmetros analisados após a colheita de milho (120 dias)

Variáveis	Procedimentos
Número de folhas (N_f)	Contagem simples do número de folhas de cada planta.
Número de Espigas (N_e)	Contagem simples do número de espigas de cada planta.
Massa Fresca das raízes (MF_R), espigas (MF_E) e total da planta. (MF_{Total}).	A massa fresca do colmo, raiz e espigas, foram determinadas em uma balança eletrônica.
Massa Seca de raízes (MS_R), espigas (MS_E), e total da planta (MS_{Total}).	As estruturas colmo, raízes e espigas foram acondicionadas em envelopes de papel Kraft e colocadas em estufa de secagem a 65°C por 72 horas e pesadas novamente.
Altura da planta (H_p).	Foram medidas as alturas das plantas com trena métrica.
Comprimento da raiz (C_R)	Foi retirado o excesso de solo das raízes e determinado o comprimento com trena métrica.

Fonte: Autoria própria (2022).

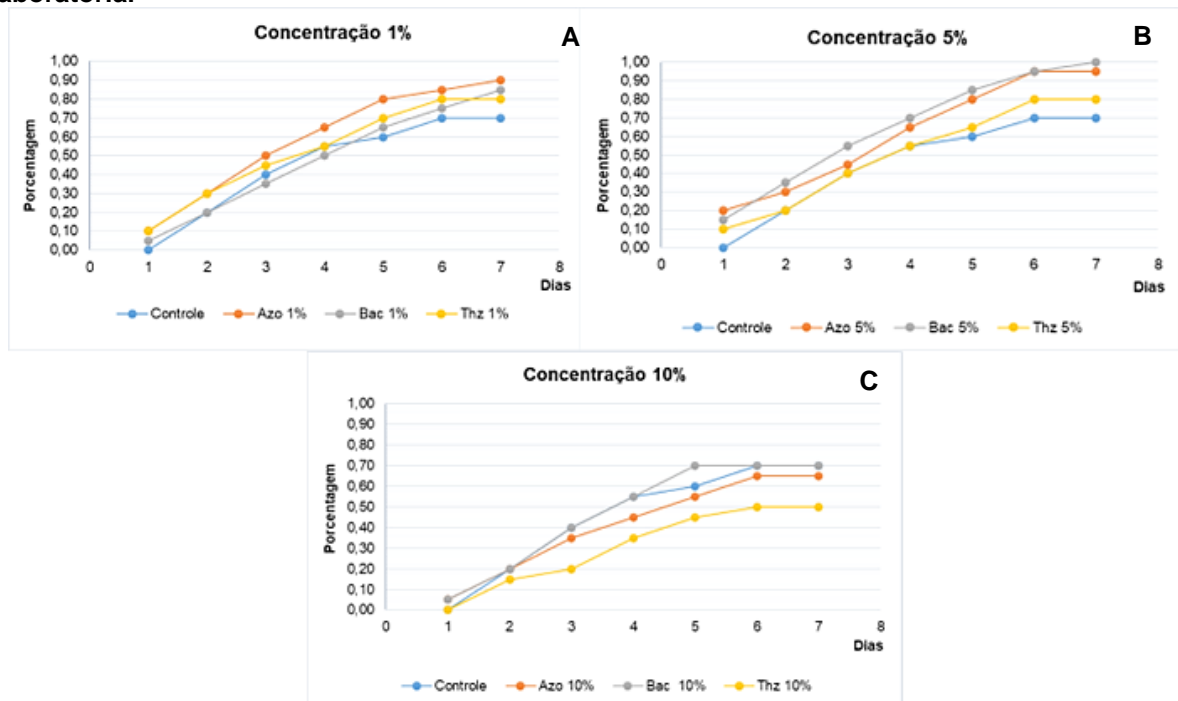
A semeadura ocorreu pela manhã do dia 30 de setembro, por ser um período com menor incidência de luz solar e temperatura amena. Após a inserção das sementes no solo, os canteiros foram cobertos com sombrite, pois as altas temperaturas durante o dia poderiam afetar a atividade dos inóculos na primeira semana (MEYER, MAZARO e SILVA, 2019).

6 RESULTADOS

Os dados apresentados nesta pesquisa foram divididos em duas etapas: Teste de Germinação e colheita.

Em relação a porcentagem de germinação (Figura 6) os dados obtidos apresentaram homocedacidade ($p > 0.05$).

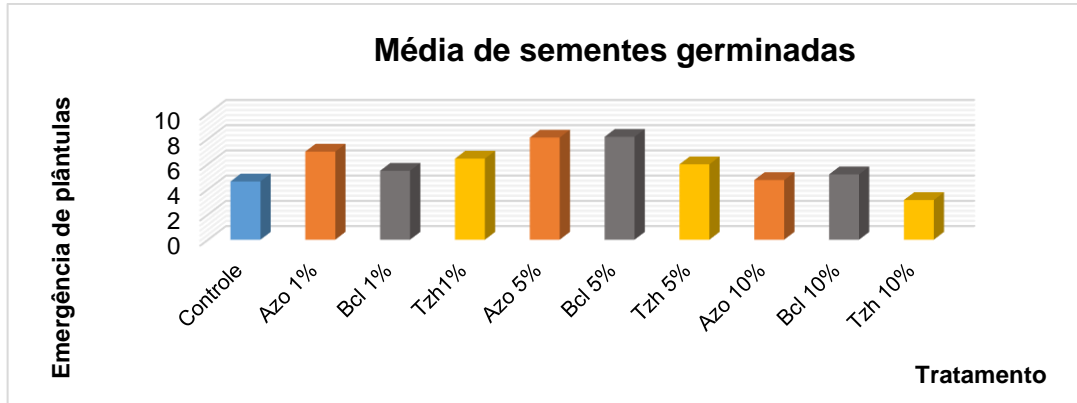
Figura 6 - Taxa de Germinação de Azo: *Azospirillum brasilense*, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial



Fonte: Autoria própria (2022).

Apesar dos tratamentos *Azospirillum* 5% e *Bacillus* 5% apresentarem um número maior de plântulas germinadas em relação ao tratamento testemunha, não houve diferença estatística ($p > 0.05$) no vigor germinativo de plântulas (Figura 7).

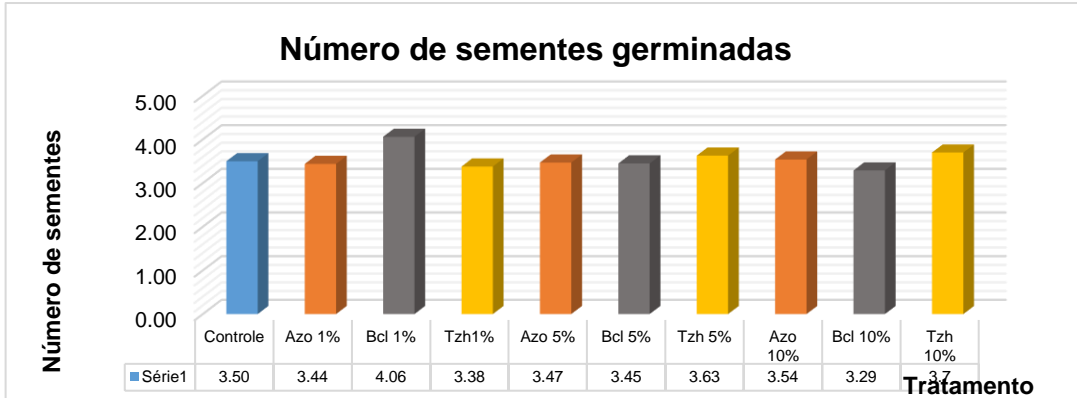
Figura 7 - Índice de Velocidade de Germinação de Azo: *Azospirillum brasilense*, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento laboratorial.



Fonte: Autoria própria (2022).

Em relação ao menor tempo necessário para germinação, grande parte dos tratamentos apresentaram homogeneidade ($p > 0.05$) em média 3 dias para brotar (Figura 8).

Figura 8 - Tempo Médio de Germinação dos tratamentos Azo: *Azospirillum brasilense*, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento laboratorial.

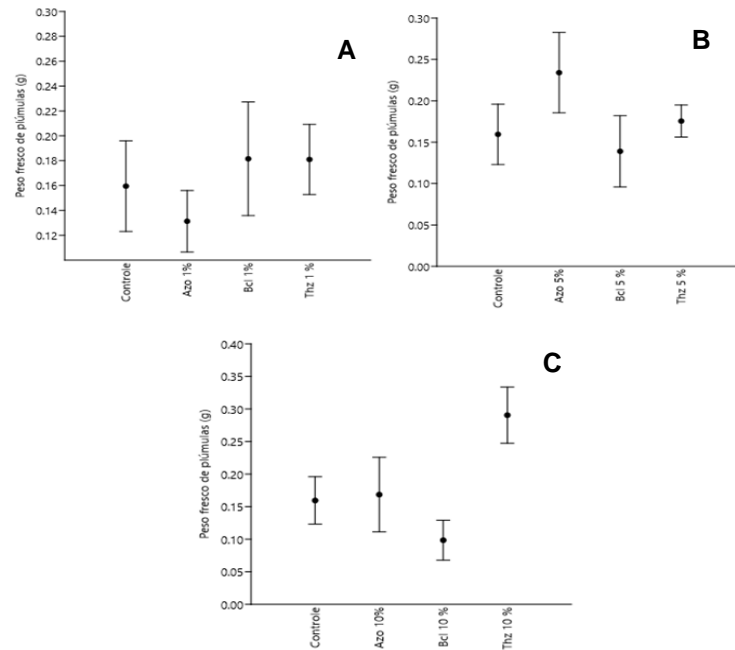


Fonte: Autoria própria (2022).

6.1 Massa fresca de plúmulas, radículas e total de plântulas.

A massa fresca de plúmulas não obteve distribuição normal ($p < 0.05$). Houve incremento significativo nos tratamento *Trichoderma* 10% em relação a testemunha ($p > 0.05$), (Figura 9).

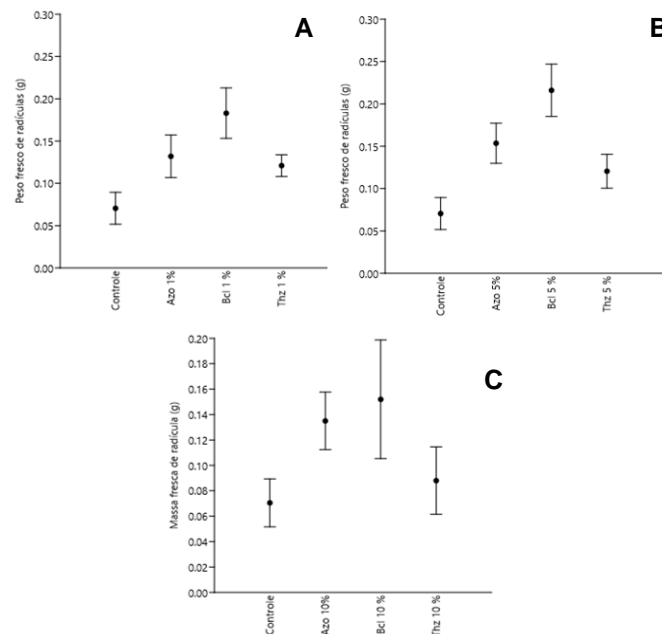
Figura 9 - Massa fresca de plúmulas tratadas com Azo: *Azospirillum brasilense*, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.



Fonte: Autoria própria (2022).

Em massa fresca de radículas, as concentrações 5% e 10% não obtiveram distribuição normal ($p < 0.05$). Apenas o tratamento com *Bacillus* 5% apresentou resultados significativos em relação a testemunha ($p < 0.05$) (Figura 10).

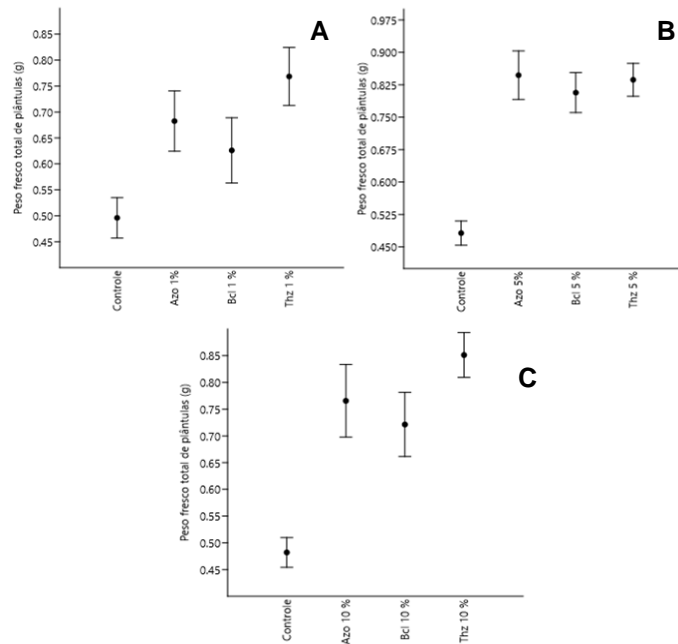
Figura 10 - Massa fresca de radículas tratadas com Azo: *Azospirillum brasilense*, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.



Fonte: Autoria própria (2022).

Os tratamentos *Azospirillum* 5% e 10%, *Bacillus* 5%, *Trichoderma* 1%, 5% e 10% foram superiores em massa fresca total de plântulas em comparação ao controle ($p < 0.05$), (Figura 11).

Figura 11 - Massa fresca total de plântulas tratadas com Azo: *Azospirillum* brasilense, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial

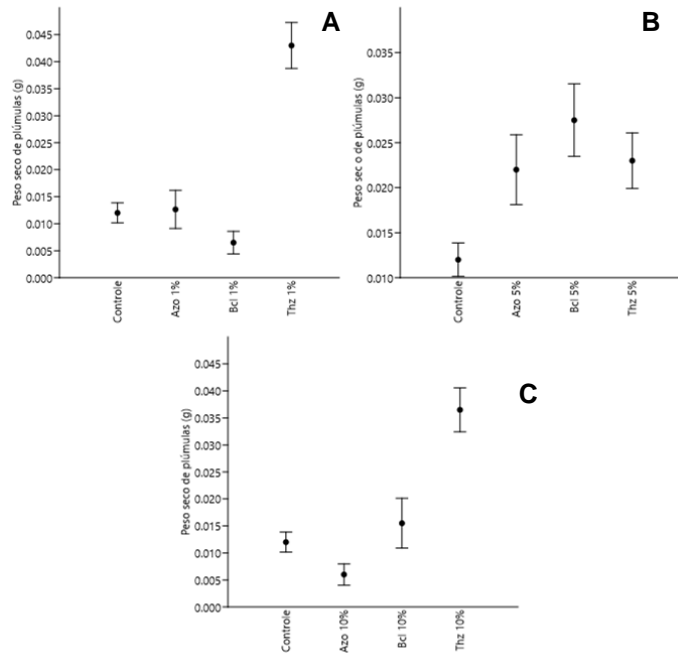


Fonte: Autoria própria (2022).

6.1.1 Massa seca de plúmulas, radículas e total de plântulas.

A massa seca de plúmulas não apresentou uma distribuição normal ($p < 0.05$). Os tratamentos com *Trichoderma* 1%, 10% e *Bacillus* 5% obtiveram massa seca de plúmulas superior ao controle (Figura 12).

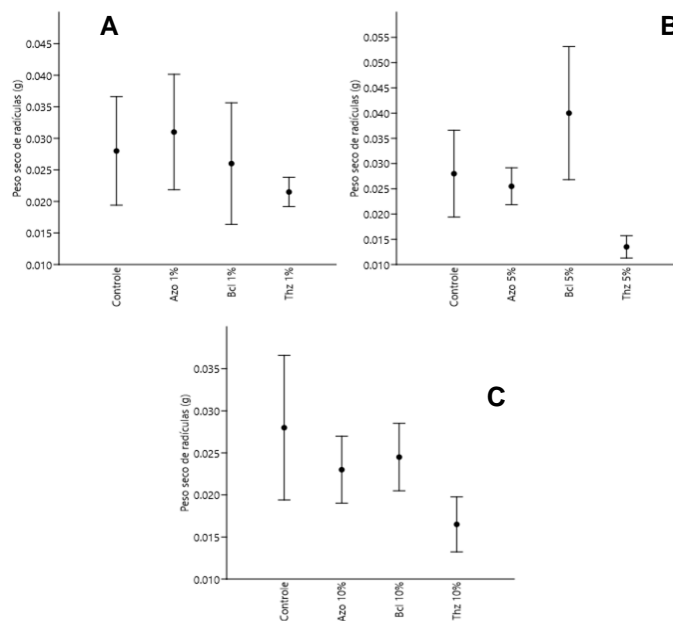
Figura 12 - Massa seca de plúmulas tratadas com Azo: *Azospirillum brasilense*, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.



Fonte: Autoria própria (2022).

Em relação a massa fresca de radículas, independente da cepa utilizada não houve diferenças significativas em relação a tratamento controle (Figura 13).

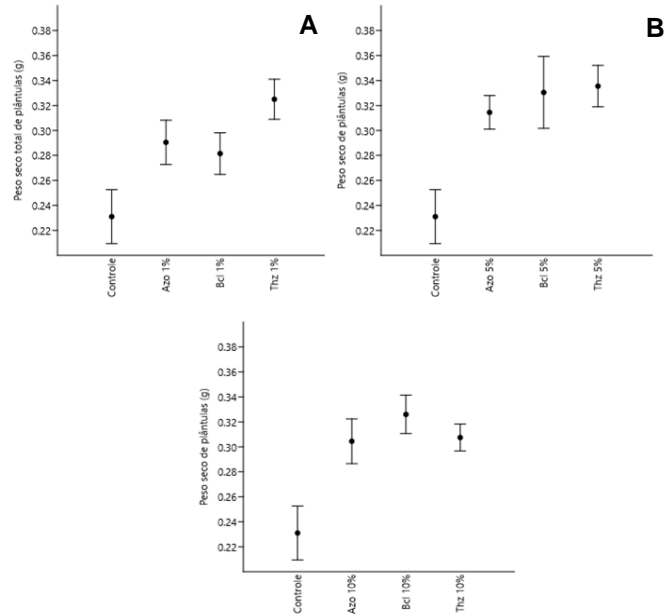
Figura 13 - Massa seca de radículas tratadas com *Azospirillum brasilense*, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.



Fonte: Autoria própria (2022).

Em relação á massa seca total de plântulas, a concentração 5% para as três estirpes não obteve distribuição normal ($p < 0.05$). Entretanto foi superior em todos os tratamentos quando comparada ao controle ($p < 0.05$) (Figura 14).

Figura 14 - Massa seca total de plântulas tratadas com Azo: *Azospirillum brasilense*, Bcl: *Bacillus subtilis* e Thz: *Trichoderma asperellum*, diluídos nas concentrações (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% no experimento laboratorial.



Fonte: Autoria própria (2022).

A colheita foi encerrada 120 dias após sementeira, em termos de desenvolvimento, todos os tratamentos apresentaram resultados expressivos em campo (Figura 15).

Figura 15 - Aspecto de plantas distribuídas por canteiros experimentais

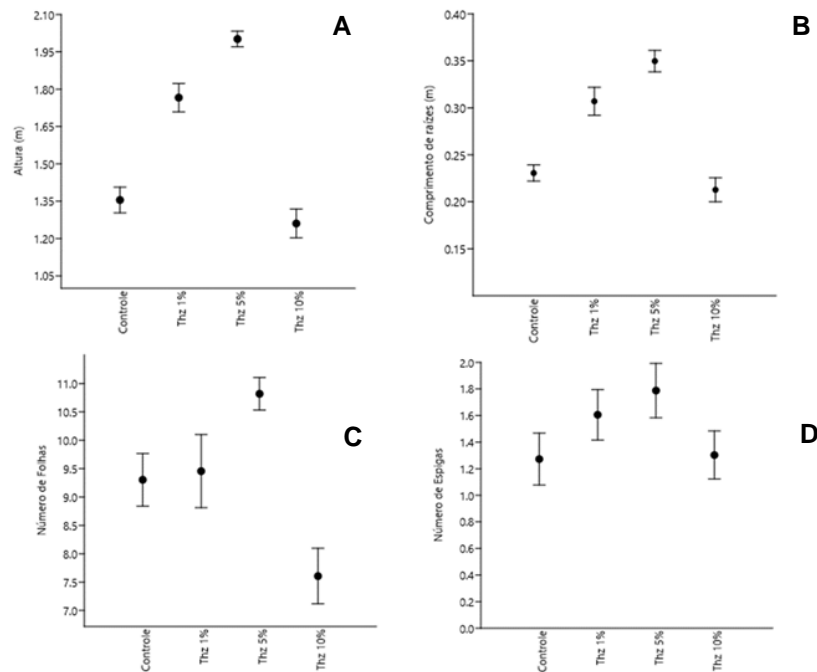


Fonte: Autoria própria (2022).

6.2 Altura das plantas, comprimento de raízes, o número de folhas por planta e número de espigas

Houve diferenças estatísticas nos parâmetros alturas das plantas, comprimento de raízes e número de espigas nos tratamentos *Trichoderma* 1% e 5%. Para o número de folhas, as concentrações 5% e 10% foram mais efetivas em relação ao controle ($p < 0.05$) (Figura 16).

Figura 16 - (A) Altura das plantas, (B) comprimento de raízes, (C) número de folhas por planta e (D) número de espigas, tratadas com *Trichoderma asperellum* diluído nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento de semeadura.

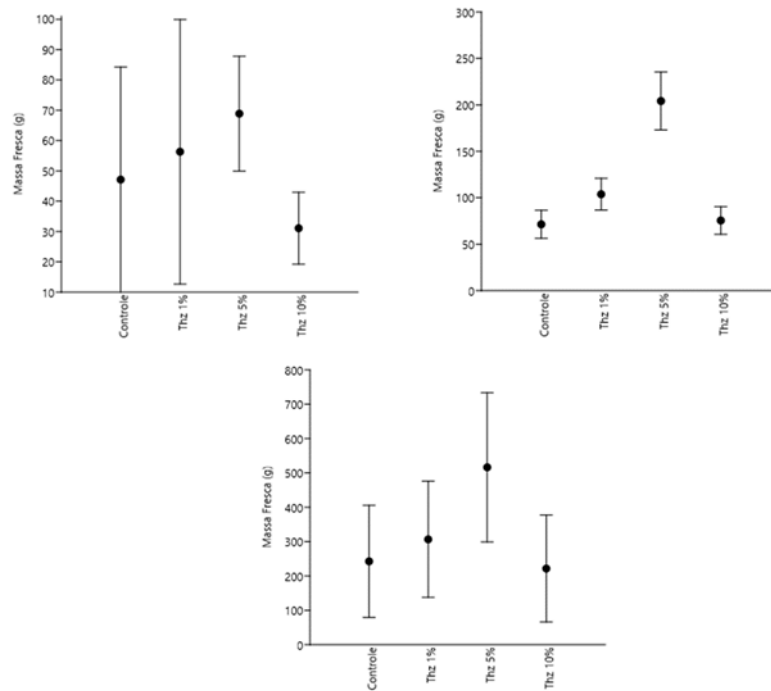


Fonte: Autoria própria (2022).

6.2.1 Massa Fresca da raízes, espigas e total das plantas. Massa Seca da raízes, espigas, e total das plantas.

Todos os tratamentos apresentaram diferenças estatísticas na massa fresca de raízes em relação à testemunha ($p < 0.05$). Em relação ao peso fresco das espigas apenas a concentração *T.asperellum* 5% demonstrou superioridade. Por fim, os tratamentos *T.asperellum* 1%, 5% apresentaram maiores incrementos de massa fresca total de plantas em relação à testemunha (Figura 17).

Figura 17 - (A) Massa Fresca de raízes, (B) espigas, (C) total de plantas tratadas com *Trichoderma asperellum* diluído nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento de semeadura.



Fonte: Autoria própria (2022).

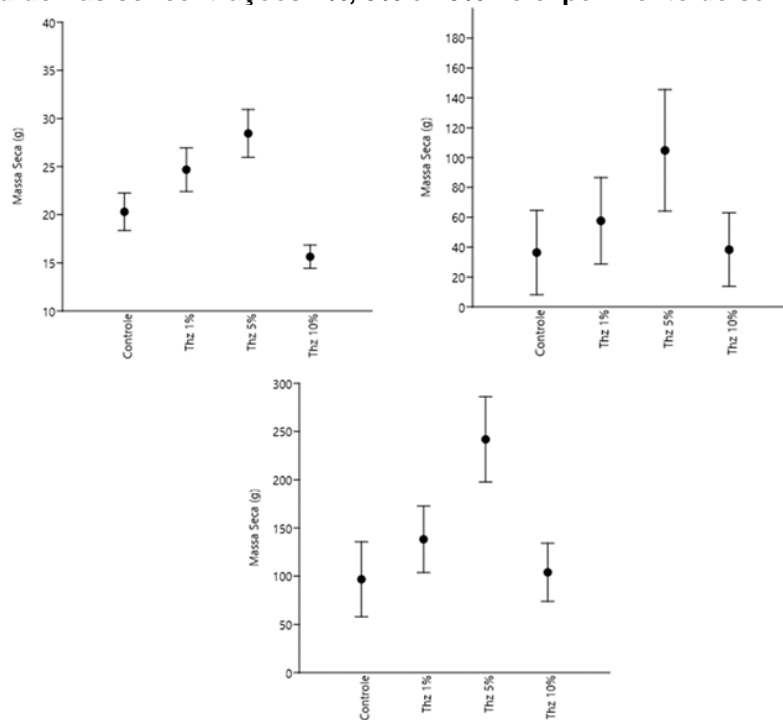
Figura 18 - Aspecto de raízes (A), espigas (B) e plantas frescas (C) tratadas com *Trichoderma asperellum* diluído nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento de semeadura.



Fonte: Autoria própria (2022).

Em relação a massa seca, todos os tratamentos obtiveram diferenças estatísticas no peso seco de raízes comparados a testemunha ($p < 0.05$). Os tratamentos *T. asperellum* 1% e 5% obtiveram maiores incrementos na massa de espigas. E por fim, os tratamentos *T. asperellum* 1% e 5% obtiveram valores de massa seca total superior em relação ao controle (Figura 19).

Figura 19 - Massa seca da raiz (A), espigas (B) e total de plantas (C) tratadas com *Trichoderma asperellum* diluído nas concentrações 1%, 5% e 10% no experimento de semeadura



Fonte: Autoria própria (2022).

Foi verificado no canteiro *T. asperellum* 10% a presença de algumas espigas atacadas pelo fungo *Ustilago maydis* (DC.), conhecido popularmente como carvão-do-milho, é uma doença encontrada em algumas regiões da América Latina, Central e México (Embrapa, 2016), porém também apreciada e consumida no mercado de iguarias no mundo todo (Figura 20).

Figura 20 - Aspecto de espiga tratada com Trichoderma 10% no experimento de semeadura, atacada pelo fungo Ustilago maydis (DC)

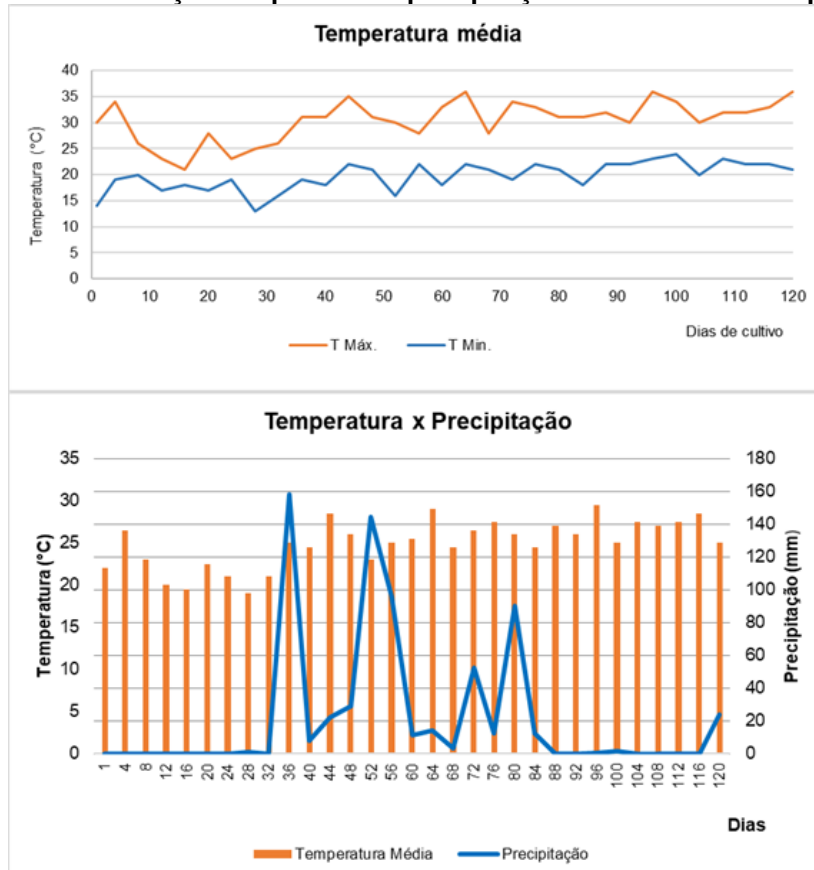


Fonte: Autoria própria (2022).

6.3 Temperatura e precipitação

A temperatura média foi de 25°C e a precipitação total foi de 551.7mm durante o ciclo de plantio, os meses mais chuvosos foram os meses de outubro e dezembro (Figura 21).

Figura 21 - Correlação temperatura e precipitação durante o ciclo de plantio.



Fonte: Autoria própria (2022).

7 DISCUSSÃO

O teste de germinação dá ao produtor um panorama sobre a qualidade de suas sementes e dos produtos aplicados nas lavouras. Grande parte dos tratamentos empregados neste ensaio apresentaram resultados superiores ao tratamento controle principalmente nos parâmetros de massa seca total de plântulas. Nos demais parâmetros, as ações dos microrganismos como bioestimulantes no processo de germinação ocorreu de forma variável. Entre as quatro concentrações analisadas (controle, 1%, 5% e 10%) sobre nove variáveis analisadas (TG, IVG, TMG, massa fresca e seca de plúmulas, radículas e total de plântulas) a cepa *Trichoderma* apresentou maiores incrementos, sendo superior nos parâmetros de massa fresca e seca de plúmulas e massa fresca total de plântulas.

Resultados semelhantes foram observados pelos autores Cardóre et al., (2014) em um ensaio com plântulas de arroz (*Oryza sativa*), foi observado um vigor maior na germinação dos embriões e maiores pesos de massa fresca e seca nas plântulas tratadas com 0,1ml do bioformulado Trichodel. Do mesmo modo, Romagna, Karsburg e Pinto (2019) verificaram que a inoculação de *Trichoderma* 2% promoveu um maior estímulo na emissão de radículas de cenouras (*Daucus carota*) e alface (*Lactuca sativa*). Por fim, Bertolin et al., (2018) em ensaios com a espécie *Paspalum regnellii* inoculada com *Trichoderma harzianum* observaram que a inoculação com a estirpe não influenciou no vigor de emergência de plântulas, porém foram observados resultados superiores no tamanho da parte aérea e das radículas na concentração de 30×10^9 UFC/ml do inoculante.

Segundo Sánchés (2019) a ação de *Trichoderma* contribui para uma emergência mais rápida de plântulas, aceleração da prematuridade do período de floração e incrementos no número de folhas por planta. Além disso, a inoculação deste fungo pode aumentar o tamanho de frutos e fornecer um ciclo de vida mais alongado aos vegetais, corroborando de forma parcial com as observações feitas no teste de germinação deste estudo. Ramírez et al., (2014) argumenta que a rápida emergência de plântulas está relacionada a ação do fungo nos tecidos meristemáticos primários, o que pode contribuir com uma melhor assimilação de nutrientes, promovendo o aumento das raízes laterais e contribuindo no aporte de antocianinas nas folhas, resultando em maiores atividades fotossintéticas e em plântulas maiores e mais vigorosas.

Em relação as sementes tratadas com *Bacillus subtilis*, foram observados resultados significativos apenas nos parâmetros de massa fresca de radículas. Os resultados limitados obtidos neste ensaio divergem em alguns aspectos aos resultados encontrados na literatura.

Os autores Romagna, Karsburg e Pinto (2019) trabalhando com a germinação de plântulas olerícolas como alface, cenoura e tomate (*Solanum lycopersicum*), obtiveram resultados significativos no peso de radículas de cenoura, alface e no acúmulo de massa seca em plântulas de tomate, utilizando a dose de 2% do peso amostral. Entretanto, os mesmos autores concluíram que a estirpe retardou o tempo de germinação, reduziu o tamanho da parte aérea e o acúmulo de matéria seca em plântulas de alface.

Domingues et al., (2019) em seus ensaios com a cultura soja (*Glycine max*) observaram um maior vigor na germinação e na massa fresca de radículas em plântulas tratadas na dose 1×10^3 UFC/ml associada a doses crescentes de ácido húmico. Entretanto, esse mesmo autor verificou que não haver diferença nos parâmetros de massa fresca da parte aérea. Por fim, Oliveira et al., (2016) analisando lotes de alto e baixo vigor de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) verificou um aumento no comprimento de plântulas, nas raízes primárias e na massa seca em sementes de alto vigor inoculadas com 1×10^9 UFC/ml da estirpe.

O resultado obtido neste trabalho, pode ser explicada pela baixa fonte de carbono e nutriente no meio, somada à variação da temperatura nas câmaras de germinação, o que pode ter afetado diretamente na biomassa bacteriana da estirpe (YAMILETH, 2019). Entretanto, estudos apontam que a inoculação de sementes com *Bacillus* têm proporcionado respostas significativas no sistema radicular de plântulas, estabelecendo mudas mais velozes, contribuindo para uma melhor absorção de água e nutrientes, melhores formações de raízes laterais e melhor uniformidade (RAACH, BONALDO e OLIVEIRA, 2013). Para finalizar, os autores Romagna, Karsburg e Pinto (2019) concluíram que a inoculação de *Bacillus* nas culturas, tende a deixar as plântulas mais rústicas e aptas para sobreviverem às condições adversas.

Em relação ao tratamento com *Azospirillum brasilense*, houveram resultados positivos nos parâmetros massa fresca e seca total de plântulas, corroborando também de maneira parcial com os escritos de outros autores.

Um ensaio realizado por Dartora et al., (2013), com plântulas de milho - *Zea mays* (L.) e trigo - *Triticum aestivum* (L.) tratadas com os princípios ativos fungicida e

inseticidas comerciais e inoculadas com estirpes de *Azospirillum* Ab-V5, Ab-V6, Hm53, SFO e IC26, observaram que a taxa de germinação de milho não diferiu entre os tratamentos, porém, houve um aumento na quantidade de radículas emergidas no tratamento com IC26 e incrementos na massa seca de raízes nos tratamentos com Ab-V5, Ab-V6. Nas plântulas de trigo, apenas o tratamento com Ab-V6 apresentou maiores quantidades de radículas formadas. Por fim, os autores concluíram que nem todos os fungicidas e inseticidas podem ser nocivos a capacidade de colonização dessa espécie.

Conjuntamente, os autores Cardóre et al., (2016) trabalhando com a cultura do arroz e testando algumas doses de bioformulados comerciais à base de *Azospirillum* verificaram que o tratamento de sementes na dose 0,05 ml de Masterflix 2×10^8 UFC/ml com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6, contribuíram em uma germinação mais vivaz, porém não houve contribuições significativas nos parâmetros de massa fresca e seca da parte aérea e no comprimento das plântulas. Para finalizar, os autores Mazzuchelli, Sossai e Araújo (2014) em um ensaio com a cultura do milho exposta a ação de fitonematóides *Meloidogyne* e *Pratylenchus*, utilizaram a co-inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum* brasileiro no tratamento de sementes e na aplicação via sulco de plantio, observaram que não houve um controle populacional de nematóides, além disso, a co-inoculação propiciou uma redução no peso fresco da parte aérea das plantas, sendo apenas verificado incremento na altura das plantas.

Cassán et al., (2009) afirmam que a influência de *Azospirillum* no desenvolvimento de plântulas ocorre devido a penetração da bactéria no togumento das sementes melhorando a absorção de água e nutrientes. Gómez et al., (2014) cita que os efeitos observados nas plantas inoculadas com *Azospirillum* depende da concentração do inoculante, sendo 1×10^9 UFC/ml uma dose inibitória ao crescimento de raízes, o autor finaliza que 1×10^8 UFC/ml é uma dose recomendada.

Sucintamente, os diferentes resultados obtidos no ensaio de germinação, podem ter ocorrido por diferentes fatores. De acordo com Embrapa (2021), a temperatura ideal para germinação de sementes de milho compreende a faixa de 25°C a 30°C, sendo temperaturas acima de 40°C inibitórias ao desenvolvimento de plântulas e abaixo de 10°C retardam a germinação dos embriões, além disso, o êxito no estabelecimento de plântulas também está ligado a qualidade das sementes Romagna, Karsburg e Pinto (2019). Grande parte dos benefícios proporcionados pela

inoculação de microrganismos, ocorrem no estágio inicial de desenvolvimento Vasconcelos et al., (2016) conclui que as grandes contribuições fornecidas pelos microrganismos podem se dar em períodos de escassez nutricional.

Na semeadura os melhores resultados observados foram no tratamento com *Trichoderma* 5%. Embora a inoculação desse organismo tenha promovido incrementos significativos nos parâmetros altura das plantas, massa fresca e seca das espigas, massa fresca e seca total das plantas, os resultados obtidos nesta pesquisa não alcançaram uma produtividade equiparável aos resultados observados nos sistemas de plantio convencionais.

A ação de *Trichoderma* como bioestimulante em plantas pode variar de acordo com a cultura vegetal e a espécie de organismo isolada (BARRETO, 2019). Os fungos do gênero *Trichoderma* possuem diversas aplicações (ETHUR et al., 2012), entre os aspectos mais elucidados destacam-se atuação no controle biológico de fitopatógenos, em seguida o um melhor desempenho no estágio inicial no desenvolvimento de plântulas (CHAGAS JUNIOR et al., 2015; BONONI et al., 2020).

Os resultados superiores no peso das espigas podem ser explicados pela facilitação na absorção de nitrogênio (FERREIRA et al., 2011) resultando em maiores incrementos proteicos, além de contribuir no desenvolvimento total da planta. Além disso, o aporte de auxinas, excretado pelo fungo pode aumentar a atividade da enzima ACC que catalisa a conversão de S-adenosil metionina precursor do etileno nas plantas, o aporte de giberelinas e ácido ábscísico pode ter refletido numa maturação precoce dos frutos conforme observado nos canteiros (HERMOSA et al., 2012; ZÚÑIGA et al., 2013; SILVA, 2019).

Devido a sua atuação como bioestimulante no sistema radicular através sintetização de fitohormônios auxinas - AIA (ácido indolacético) na rizosfera de plantas, responsável pelo crescimento radicular, o *Trichoderma* pode ter contribuído em uma melhor assimilação de nutrientes essenciais como fosfato responsável pelo melhor desenvolvimento de raízes (OLIVEIRA et al., 2017; SILVA, 2019; FRANCO et al., 2012).

Em relação a altura das plantas, os autores Chagas et al., (2016) relatam que a ação do *Trichoderma* na solubilização de fósforo inorgânico contribui no metabolismo, no armazenamento e transferência de energia da célula, além do processo de respiração celular e na fotossíntese, essenciais na manutenção para a sobrevivência dos vegetais, ademais, a ação de giberelinas permite o alongamento

de entrenós, o que podem ter contribuído no parâmetro de altura das plantas observadas nos canteiros (HANNAN *et al.*, 2013; CHAGAS *et al.*, 2016; SILVA, 2019).

Por fim, o aumento nas massas frescas e seca pode ser explicado pela produção de AIA (ácido indolacético) na região da rizosfera, sendo este um fitohormônio responsável pelo aumento da parte aérea das plantas (OLIVEIRA *et al.*, 2017). O número de folhas por planta embora abaixo do esperado, permitiu às plantas uma maior absorção de luz e por consequência, melhores desempenho na fotossíntese e aporte de carbono (YAMILETH, 2019).

Á indução a resistência a estresses abióticos e hídricos que o microrganismo proporcionou, impediu que mesmo com a escassez hídrica, exposição a as altas temperaturas e a umidade do ar abaixo de 50% durante o ciclo, não interferissem na mortandade de plantas ou nas quebras no colmo (CAMUZZATO, 2022).

O tratamento da parte aérea com *Trichoderma* nas concentrações 1%, 5% e 10% não foi capaz de inibir a ação de pragas como *Astylus variegatus*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Dichelops* sp., *Rhopalosiphum maidis*, *Spodoptera frugiperda* e *Formicidae*. No entanto, a aplicação teste do inoculante 1% *Chromobacterium* durante a fase de infestação promoveu uma redução nas populações de percevejos, lagartas e formigas.

Em relação aos fatores climáticos sobre o desempenho da cultura a campo, a baixa precipitação resultou no suprimento por regas diárias no período da tarde. A baixa restrição hídrica, somada a baixa umidade do ar podem ter contribuído para redução das plantas de um modo geral, pois um menor alongamento celular pode resultar na diminuição da taxa fotossintética e por consequência reduzir o metabolismo das plantas (EMBRAPA, 2018).

A Embrapa (2021) analisando o comportamento da cultura do milho, a temperaturas entre 24°C e 30°C entre os estágios de germinação VE à floração R1 promovem um melhor estabelecimento e desenvolvimento da cultura em campo, também foram verificados incrementos significativos de massa seca e rendimento de grãos na temperatura de 21°C e portanto, os autores concluíram que temperaturas acima de 26°C aceleram a fase de floração e temperaturas abaixo de 15°C retardam o desenvolvimento das plantas no campo. Do mesmo modo, a quantidade requerida de água para a cultura ao longo de seu ciclo está em torno de 600mm, com médias de 2,5 mm/dia. Durante as fases de espigamento e maturação a estimativa é que a exigência de água dobre, ou quadruple se a umidade do ar estiver abaixo de 50%.

Estudos feitos por Jungles et al., (2014) com sementes de milho inoculadas com *Trichoderma*, testadas via microbiolização, peliculização e restrições hídricas, concluíram que a restrição hídrica proporcionou uma melhor microbiolização das sementes e que a restrição hídrica somada a técnica de peliculização proporcionou um melhor biocontrole de patógenos associados às sementes e mantendo estável o vigor das plântulas de milho.

8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa, denotaram resultados significativos no teste de germinação, na semeadura em campo os dados observados indicaram uma menor maximização na cultura do milho devido a sua performance em campo. Diante disso, alguns fatores, precisam ser considerados:

- I. O melhor custo-benefício na etapa de germinação ocorreu no tratamento *Trichoderma* 1%, entretanto, a concentração *Trichoderma* 10% deixaram as plântulas emergidas com um tamanho maior em relação aos demais tratamentos;
- II. O tratamento com *Bacillus* 5% no teste de germinação, reduziu consideravelmente o tempo de brotamento das sementes;
- III. No campo o melhor desempenho na semeadura ocorreu na concentração *Trichoderma* 5%;
- IV. As plantas tratadas na concentração *Trichoderma* 10% tiveram maiores tamanhos no primeiro mês. Entretanto, grande parte das plantas apresentaram tamanhos inferiores a 1.30 metro no final do ciclo de plantio;
- V. Ensaio de co-inoculação entre *Bacillus* 5% e *Trichoderma* 5% podem ser mais viáveis nos parâmetros de velocidade de germinação e incrementos de massa fresca e seca de plantas e raízes na semeadura em campo;
- VI. Pesquisas que detalhem os mecanismos de ação direta dos microrganismos sobre as estruturas das plantas precisam ser mais aprofundadas.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, L. As dez comidas mais comidas no mundo. **Revista Super abril**. São paulo, jul 2016. Disponível em: <https://super.abril.com.br/mundo-estranho/as-10-comidas-mais-comidas-no-mundo/>. acesso em: 10 mai.2022.

ALBAUGH, T. J.; RUBILAR, R. A.; FOX, T. R.; ALLEN, H. L.; URREGO, J. B.; ZAPATA, M.; STAPE, J. L. Response of *Eucalyptus grandis* in Colombia to mid-rotation fertilization is dependent on site and rate but not frequency of application. *Forest Ecology and Management*. **Forest Ecology and Management**. v.342, p.30-39, 2015. Disponível em: 10.1016/j.foreco.2015.04.030. Acesso em: 08 ago.2022.

ALVAREZ, H.; PIONCE, J.; JOSE, C.; VIERA, W.; SOTOMAYOR, A. Densidades poblacionales y fertilización nitrogenada en maracuyá. **Revista Científica Equatoriana**. v.5, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/324042603_DENSIDADES_POBLACIONALES_Y_FERTILIZACION_NITROGENADA_EN_MARACUYA. Acesso em: 27 Jul.2022.

ARMENDÁRIZ, L.; ÓCON, C.; CAPÍTULO, A. R. Potential responses of oligochaetes (*Annelida, Clitellata*) to global changes: Experimental fertilization in a lowland stream of Argentina (South America). **Limologica**.v.42, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.limno.2011.09.005>. Acesso em: 08 ago.2022

BARASSI, C. A.; SUELDO, R. J.; CREUS, C. M.; CARROZZI, L. E.; CASANOVAS, W. M.; PEREYRA, M. A. **Potencialidad de Azospirillum en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas**. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp. cell physiology, plant interactions and agronomic. Asociación Argentina de Microbiología. 2008.

BERTOLIN, G. S.; WIETHAN, M. M. S.; VEY, R. T.; OLIVEIRA, J. C. P.; KÖPP, M. M.; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* na promoção do desenvolvimento de plantas de *Paspalum regnellii* Mez. **Revista de Ciências Agrárias**, v.41, n.1, 2019. Disponível em: <https://revistas.rcaap.pt/index.php/rca/article/view/17087>. Acesso em: 11 nov.2022

BONONI, L.; CHIARAMONTE, J. B.; PENSA, C. C.; MOITINHO, M. A.; MELO, I. S. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**.v.10, n. 2858, 2020 Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-59793-8>. Acesso em 24 mar.2022

BORDIGA, C. L. **Bactérias do gênero azospirillum: inoculação no milho**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Agrônômica) - Instituto Federal De Educação de Goiás, 2022. Disponível em: https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/2453/4/tcc_Cristov%C3%A3o%20Loreto%20Bordiga.pdf. Acesso em: 21 jul.2022.

- BUENO, D. **Sistema de resistência de plantas**. Agrotécnico 2022. Disponível em: <https://www.agrotecnico.com.br/sistemas-de-resistencia-de-plantas/>. Acesso em: 09 nov.2022.
- BULLA, D.; BALBINOT, J. A. A. Inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio. **Revista agropecuária catarinense**. v. 25, n. 2, 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/101915/1/Inoculacao-de-sementes-de-milho-com-Azospirillum-brasiliense-em-diferentes-doses-de-nitrogenio.pdf>. Acesso em: 17 mar 2022
- BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Insumos Agropecuários: **Estatísticas do Setor**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/plano-nacional-de-fertilizantes/estatisticas-do-setor>. Acesso em: 10 set.2022.
- CABRERA, O. A. G.; FRANCO, A. D.; PEÑA-CABRIALES, J. J.; NUÑES, J. A. Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**. v. 3, n. 6, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v3n6/v3n6a15.pdf>. Acesso em 19 mar. 2022.
- CARDORE, L. S.; DA SILVA, N. G.; VEY, R. T.; DA SILVA, A. C. F. Inoculação de sementes com *Trichoderma harzianum* e *Azospirillum brasiliense* no desenvolvimento inicial de arroz. **Enciclopédia Biosfera**. v.13, n.24, 2016. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2016b/agrarias/Inoculacao.pdf>. Acesso em: Acesso em 11 nov.2022.
- CHAGAS, A. F.; OLIVEIRA, A. G.; SANTOS, G. R.; REIS, H. B.; CHAGAS, L. F. B.; MILLER, L. O. Combined inoculation of rhizobia and *Trichoderma* spp. on cowpea in the savanna, Gurupi-TO, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**.v.10, n.1, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v10i1a4334>. Acesso em: 26 jun.2022.
- CAMUZZO, G. **Potencial bioestimulante de *Trichoderma* spp. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de milho sob restrição hídrica**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina. Curitibanos, 2022. Disponível em:<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/233018>. Acesso em 24 mar. 2022.
- CASSÁN F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**.v.45, n.1, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.08.005>. Acesso em 10 nov.2022.
- CETNARSKI FILHO. R.; CARVALHO, R. I. N. Massa da amostra, substrato e temperatura para teste de germinação de sementes de *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Ciência florestal**. v. 19, n. 3, p. 257-265, 2009. Disponível em:

<http://coral.ufsm.br/cienciaflorestal//artigos/v19n3/A3V19N3.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2021.

COELHO, E. F.; COSTA, F. S.; SILVA, A. C. P.; CARVALHO, G. C. Concentração de nitrato no perfil do solo fertigado com diferentes concentrações de fontes nitrogenadas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.3,2014. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141543662014000300004&lng=pt&tling=pt. Acesso em 15 mar. 2021

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. A cultura do milho: Análise dos custos de produção e da rentabilidade nos anos safra 2007 a 2017. **Compêndio de Estudos da Conab**. Brasília - DF, 2018. Disponível em: https://www.conab.gov.br/institucional/publicacoes/compendio-de-estudos-da-conab/item/download/15977_22abe6563f37c285e7116eb716a02804#:~:text=Os%20custos%20de%20produ%C3%A7%C3%A3o%2C%20o,conclus%C3%B5es%20s%C3%A3o%20as%20%C3%BAltimas%20sess%C3%B5es.&text=Entre%20os%20anos%2Dsafr%202007,situando%2Dse%20na%20terceira%20posi%C3%A7%C3%A3o. Acesso em: 08 abr. 2022.

CHANDINI; KUMAR, R.; KUMAR, R.; PRAKASHI, O. The Impact of Chemical Fertilizers on Our Environment and Ecosystem. *In: Research Trends in Environmental Sciences*, ed.2, p.71-86, cap.5, 2019. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/331132826>. Acesso em: 10 maio.2022.

CRUZ, J. C.; FILHO, I. A. P.; FILHO, M. R. A. Árvore do conhecimento: Milho cultivo/criação/temática/território. **Embrapa Milho e Sorgo**. 2021. Brasília, DF. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao>. Acesso em: 02 jun.2021.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; JÚNIOR, A. S. P.; CRUZ, L. M.; MENSCH, R. Influência do tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculados com *Azospirillum brasilense*. **Scientia Agraria Paranaensis**. v. 12, n. 3, 2013. Disponível em: <https://e-revista.unioeste.br/index.php/scientiaagraria/article/view/5809/6455>.

DORIGHELLO, D. V.; FORNER, C.; DE CAMPOS, R. M. V. B.; BETTIOL, W. Management of Asian soybean rust with *Bacillus subtilis* in sequential and alternating fungicide applications. **Australasian Plant Pathology**. v.49, p. 79-86, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13313-019-00677-5>. Acesso em: 10 maio.2022.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**. v.196, p.3-15, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>. Acesso em: 10 nov.2022.

EHLERS, E. **O que é agricultura sustentável?**. São Paulo: Coleção primeiros passos, 2017. *E-book*. Disponível em:

[https://www.google.com.br/books/edition/O_que_%C3%A9_agricultura_sustent%C3%A1vel/smgvDwAAQBAJ?hl=pt-BR_gbp_v=1 & printsec=front cover](https://www.google.com.br/books/edition/O_que_%C3%A9_agricultura_sustent%C3%A1vel/smgvDwAAQBAJ?hl=pt-BR_gbp_v=1&printsec=front_cover). Acesso em 10 mai. 2022.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Estudos revelam que 30% dos solos no mundo estão degradados. **Recursos Naturais**. 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/14343883/estudo-revela-que-30-dos-solos-do-mundo-estao-degradados#>. Acesso em: 18 jul. 2022.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Agricultura nas mãos de microrganismos benéficos. **Embrapa Arroz e Feijão**. 2020. Brasília - DF. Disponível em: <https://www.embrapa.br/buscadenoticias//noticia/51405622/agricultura-nas-maos-de-microrganismos-beneficos>. Acesso em: 06 abr. 2022.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Controle do oídio do tomateiro com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*. **Embrapa Meio Ambiente**. 2011. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/918661/controlado-oidio-do-tomateiro-com-bacillus-subtilis-e-bacillus-licheniformis>. Acesso em: 12 ago.2021.

ES SOUFI, R.; TAHIRI H.; AZAROUAL, L.; EL OUALKADI, A.; MARTIN, P.; BADOUC, A.; LAMARTI, A. In Vitro Antagonistic Activity of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens* against *Colletotrichum acutatum*. **Advances in Microbiology**. v.10 n.3, 2020. Disponível em:10.4236/aim.2020.103008. Acesso em: 10 maio.2022.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS **Representante da FAO Brasil apresenta cenário da demanda por alimentos**. 2017. Brasília – DF. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/901168/>. Acesso em 04 mar.2021

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Agências da ONU promovem diálogo sobre o uso de agroquímicos**. 2022. Brasília – DF. Disponível em: <https://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/es/c/1397857/>. Acesso em: 06 abr. 2022.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Pequenos agricultores familiares produzem mais de um terço dos alimentos no mundo**. 2021. Brasília – DF. Disponível em: <https://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/es/c/1397857/>. Acesso em: 06 abr. 2022.

FEIGIN, A.; HALEVY, J., **Irrigation-fertilisation-cropping management for maximum economic return and minimum pollution of ground water**. Research Report Inst. Soil Water, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan, 1989.

GABARDO, G.; PRIA, M. D; PRESTES, A. M. C; SILVA, L. H. *Trichoderma asperellum* and *Bacillus subtilis* as antagonists in the growth of phytopathogenic fungi in vitro. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v. 6, n. 8, 2020. Disponível em:10.34117/bjdv6n8-123. Acesso em: 12 abr. 2022.

GÓMEZ, M. M.; MERCADO, E. C.; PINEDA, E. G. *Azospirillum* una rizobacteria con uso potencial em la agricultura. **Revista Ciencias Biológicas**.v16, n.1, 2014.

Disponível em:

<https://www.biologicas.umich.mx/index.php?journal=biologicas&page=article&op=view&path%5B%5D=172>. Acesso em 10 nov.2022.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**. n. 158. Disponível em: 10.1099/mic.0.052274-0. Acesso em 04 mar.2022.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Documentos Técnicos 2007. **Embrapa Soja**.

Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/564908/a-importancia-do-processo-de-fixacao-biologica-do-nitrogenio-para-a-cultura-da-soja-componente-essencial-para-a-competitividade-do-produto-brasileiro>.

Acesso em: 21 jul. 2022.

INCA – Instituto Nacional Do Câncer. **Estimativa de casos novo, 2020**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/estado-capital/parana-curitiba>. Acesso em: 08 nov. 2022.

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; SILVA, J. B. T.; SILVA, G. B. T.; MELLO S. C. M. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma spp.* contra os patógenos *Sclerotium rolfii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**. v.40, n.1, p.34-41, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052014000100005>.

Acesso em: 12 abr. 2022.

JUNGES, L.; BASTOS, B. O.; TOEBE, M.; MULLHER, J.; PEDROSO, D. C.; MUNIZ, M. F. B. Restrição hídrica e peliculização na microbiolização de sementes de milho com *Trichoderma spp.* **Comunicata Scientiae**. v.5, n.1, p.18-25, 2014. Disponível em: 10.14295/cs.v5i1.386. Acesso em: 02 nov.2022.

KAPRI, A.; TEWARI, L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma spp.* **Brazilian Journal of Microbiology**.

São Paulo, v. 41, n. 3, 2010. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/bjm/a/FF5vxZ6SpvrB6hsjQgzcFxr/?lang=en>. Acesso em: 26 Jun 2022.

LEI, X.; PIAO, X.; RU, Y.; ZHANG, H.; PÉRON, A.; ZHANG, H. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based Direct-fed Microbial on Performance, Nutrient Utilization, Intestinal Morphology and Cecal Microflora in Broiler Chickens. **Australasian Journal of Animal Sciences**. v. 28, n.2, p.239-246, 2015. Disponível em:

10.5713/ajas.14.0330. Acesso em: 22 mar. 2022

LIMA, D. O. **Os Impactos do Crescimento Populacional Sobre a Produção Agrícola de Alimentos e Demanda dos Fatores Primários de Produção**: Uma Abordagem de Blocos Econômicos. 2017. Dissertação (Pós-graduação em Economia), Universidade Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/5369>. Acesso em: 10 mai.2022.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAÚJO, F. F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura de Milho. **Colloquium Agrariae**.v.10, n.2, 2014. Disponível em: <https://revistas.unoeste.br/index.php/ca/article/view/1151/1204>. Acesso em: 06 abr. 2022.

MEYER, M. C.; MAZARO, M. S.; SILVA, J. C. **Trichoderma: uso na agricultura**. v.1, n.1, 2019. Embrapa soja. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/publicacao/1117296/trichoderma-uso-na-agricultura>. Acesso em: 15 jun. 2021

MILLÉO, M. V. R.; CRISTÓFOLI, I. Avaliação da eficiência agronômica da inoculação de *Azospirillum* sp. na cultura do milho. **Scientia Agraria**. v. 17, n. 3, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v17i3.44630>. Acesso em: 21 jul.2022.

MORO, D. Micorrizas: O que são e como podem ajudar na agricultura?. **Mais soja**. 2018. Disponível em: <https://maissoja.com.br/micorrizas-o-que-sao-e-como-podem-ajudar-na-agricultura/>. Acesso em: 11 nov.2022

MOTA, M. R.; SANGOI, L.; SCHENATTO, D. E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C. M.; DALL'IGNA, L. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 512-522, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/01000683rbcs20140308>. Acesso em: 21 jul.2022.

OLIVEIRA, J. B. **Promoção do crescimento e da produtividade de trigo pelo emprego de cepas comerciais de Trichoderma spp.**2017. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. Disponível em: <http://www.bdt.d.ueg.br/handle/tede/458>. Acesso em: 19 jun.2022

OLIVEIRA, G. R. F.; SILVA, M. S.; PROENÇA, S. L.; BOSSOLANI, J. W.; CAMARGO, J. A.; FRANCO, F. S.; SÁ, M. E. Influência do *Bacillus subtilis* no controle biológico de nematóides e aspectos produtivos do feijoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**. v.11, n.1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.18011/bioeng2017v11n1p47-58>. Acesso em: 06 abr. 2022

PANIS, C.; CANDIOTTO, L.; GABOARDI, G.; CRUZ, J.; CASTRO, M.; LEMOS, B. Widespread pesticide contamination of drinking water and impact on cancer risk in Brazil. **Environment International**. v. 165, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107321>. Acesso em: 08 nov.2022

PEREIRA, I. A.; MANTOVANI, C. E.; VIANA, J. H. M.; FILHO, M. R. A.; OLIVEIRA, M. F.; NETO, M. M. G.; ALVARENGA, R. C.; MATRANGOLO, W. J. R.; CRUZ, J. C. Cultivo do Milho. 2015. Brasília DF. **Embrapa Milho e Sorgo**. Disponível em: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistema_sdeproducao1f6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column1&p_p_col_count=1&p_r_p_76293187_sistemaProducaoId=7905&p_r_p_-996514994_topicId=1309. Acesso em: 14 mar.2021.

POACEAE IN: **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB87094>. Acesso em: 19 jul. 2022.

RAASCH, L. D.; BONALDO, S. M.; OLIVEIRA, A. A. F. *Bacillus subtilis*: enraizamento e crescimento de miniestacas de eucalipto em Sinop, norte de Mato Grosso, Brasil. **Bioscience Journal**. v.29, n.1, 2013. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/15179>. Acesso em: 12 ago. 2022.

REZENDE, C. C.; SILVA, M. A.; FRASCA, L. L. M.; FARIA, D. R.; FILIPPI, M. C. C. LANNA, A. C.; NASCENTE, A. S. Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura. **Research, Society and Development**, v.10, n.2. 2021. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1136809/1/rsd-2021.pdf>. Acesso em: 03 nov.2022.

REYES, G. E; CORTÉZ, J. D. Intensidad En El Uso de Fertilizantes En América Latina y El Caribe (2006-2012). **Agricultural Science and Technology Information**. v.29, n.1, 2016. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BR2021X04373>. Acesso em: 06 abr. 2022.

ROMAGNA, I. S.; JUNGES, E.; KARSBURG, P. A.; PINTO, S. Q. Bioestimulantes em sementes de olerícolas submetidos a testes de germinação e vigor. **Scientia Plena**. v.15, n.10, 2016. Disponível em: [10.14808/sci.plena.2019.100201](https://doi.org/10.14808/sci.plena.2019.100201). Acesso em: 09 nov. 2022.

SILVA, T. **Uso de biorreguladores e bioestimulantes na agricultura**. Monografia (Especialização em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas). 2019. Faculdade de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná. 2019. Curitiba. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1884/64163>. Acesso em: 11 nov.2022.

SILVA, A. C. M.; OLIVEIRA, A. L.; SANTOS, A. C.; DOS ANJOS, S. S. N.; ROSADO, T. B.; CANÇADO, L. J. Biofertilizantes e Entraves na Legislação Brasileira. **7º Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel**. nov. 2019. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/210837/1/LETICIA-SEG-Biofertilizantes-e-Entraves-na-Legislacao.pdf>. Acesso em: 10 mai. 2022.

SORDI, A.; BERNARDI, G.; MARODIN, L. G.; DAI PRAI, M. **Crescimento do milho submetido a aplicações de nitrogênio**. Anuário Pesquisa E Extensão Unoesc São Miguel Do Oeste, v. 5. 2020. Disponível em: <https://portalperiodicos.unoesc.edu.br/apeusmo/article/view/25128/14803>. Acesso em: 21 jul.2022

SOUZA, F. S.; FARINELLI, R.; ROSOLEM, C. A. Desenvolvimento radicular do algodoeiro em resposta á localização do fertilizante. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**. v.31 Ed.2. Abr. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832007000200021>. Acesso em: 10 mai. 2022.

STRAZZI, S. Derivados do milho são usados em mais de 150 produtos diferentes. **Revista visão agrícola**. v.1, n.13, 2015. Seção Industrialização.

Disponível em:

https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Industrializacao-artigo4.pdf. Acesso em: 10 mai. 2022.

USEPA - U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Nitrates and Nitrites: TEACH Chemical Summary. **Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health**. 2007. Disponível em:

https://www.epa.gov/teach/chem_summ/Nitrates_summary.pdf. Acesso em: 02 nov. 2022.

VASCONCELOS A. C. P.; SIQUEIRA T. P.; LANA R. M. Q.; FARIA M.V.; NUNES A. A.; LANA A. M. Q. Seed inoculation with *Azospirillum brasiliense* and N-fertilization of corn in the Cerrado biome. **Revista Ceres**. v.63, n.5, p. 732-740, 2016. Disponível em:10.1590/0034-737x201663050019. Acesso em: 11 nov.2022.

VÁZQUEZ, J. A.; GONZALEZ, J. C.; CONTRERAS, R. C.; SANGABRIEL, C. W.; ALVARADO, C. Nota técnica: Evaluación del potencial biofertilizante de cinco especies de *Trichoderma* en la producción de maíz elotero nativo e híbrido bajo condiciones de campo. **ITEA - Información Técnica Económica Agraria**. v.115, n.3, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.12706/itea.2019.006>. Acesso em:27 Jul.2022.

YAMILETH, F. R. B. **Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento del cultivo de *Bacillus sp.* y *Trichoderma sp.* en plántulas de maracuyá *Passiflora edulis f. flavicarpa***. (Licenciatura en agronomía)- Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil.Guayaquil, 2021. Disponível em: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/53152>. Acesso em: 25 jul. 2022.

ZÚÑIGA, A.; POUPIN, M. J.; DONOSO, R..Quorum sensing and índole-3-acetic acid degradation play a role in colonization and plant growth promotion of *Arabidopsis thaliana* by *Burkholderia phytofirmans* PsJN. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.26, n.5, 2013. Disponível em: 10.1094/MPMI-10-12-0241-R. Acesso em: 04 Jun 2022.

APÊNDICE A - Fotografias

Figura 22 - Aspectos de plantas expostas a temperatura e umidade.



Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 23 - Avistamento de pragas



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 24 - Aspecto de plântulas tratadas com Trichoderma



Legenda: Disposição de tratamentos da Direita para á Esquerda: 10%, 5%, 1% e controle. Fonte: Autoria própria (2022)