

Universidade Federal de São João del-Rei
Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia

JOÃO VITOR SILVÉRIO ALVES DE AVELAR

**AVALIAÇÃO DO USO DO INOCULANTE A BASE DE ESTIRPES
BACTERIANAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO NA CULTURA DO MILHO
EM DIFERENTES TIPOS DE MANEJO DA ADUBAÇÃO FOSFATADA EM
SOLOS DO MATO GROSSO DO SUL E TOCANTINS**

SETE LAGOAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2025

JOÃO VITOR SILVÉRIO ALVES DE AVELAR

**AVALIAÇÃO DO USO DO INOCULANTE A BASE DE ESTIRPES
BACTERIANAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO NA CULTURA DO MILHO
EM DIFERENTES TIPOS DE MANEJO DA ADUBAÇÃO FOSFATADA EM
SOLOS DO MATO GROSSO DO SUL E TOCANTINS**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Bioengenharia da
Universidade Federal de São João del-
Rei como parte dos requisitos
necessários para a obtenção do título de
“Magister Scientiae” (MS).

SETE LAGOAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2025

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

D587a De Avelar, João Vitor Silverio Alves .
Avaliação do uso do inoculante a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato na cultura e microbiota do milho em diferentes tipos de manejo da adubação fosfatada em solos do Mato Grosso do Sul e Tocantins / João Vitor Silverio Alves De Avelar ; orientadora Sylvia Moraes de Sousa Tinôco; coorientadora Mariana Lourenço Campolino. -- São João del-Rei, 2025.
124 p.

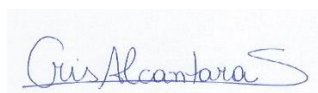
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia) -- Universidade Federal de São João del-Rei, 2025.

1. Bioinoculante. 2. Diversidade genética. 3. Fósforo. 4. T-RFLP. 5. Zea mays. I. Moraes de Sousa Tinôco, Sylvia, orient. II. Lourenço Campolino, Mariana, co-orient. III. Título.

**AVALIAÇÃO DO USO DO INOCULANTE A BASE DE ESTIRPES
BACTERIANAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO NA CULTURA DO MILHO
EM DIFERENTES TIPOS DE MANEJO DA ADUBAÇÃO FOSFATADA EM
SOLOS DO MATO GROSSO DO SUL E TOCANTINS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação
em Bioengenharia da Universidade Federal de São João
del-Rei como parte dos requisitos necessários para a
obtenção do título de “Magister Scientiae” (MS).

Aprovada em: 27 de junho de 2025



Dra. Cristiane Alcantara dos Santos
(Membro Interno)



Dra. Mariana Lourenço Campolino
(Coorientadora)



Dr. Jorge Maurício Costa Mondego
(Membro Externo)



Dra. Sylvia Moraes de Sousa Tinoco
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação representa a concretização de um percurso acadêmico e pessoal que para mim sempre foi um sonho e não teria sido possível sem o apoio de várias pessoas, às quais deixo aqui o meu profundo agradecimento.

Em primeiro lugar agradeço aos meus Pais, Fernando Alves de Avelar Teixeira e Vera Lúcia Silvério Teixeira, um agradecimento muito especial pelo apoio incondicional, paciência e encorajamento constantes para seguir meus objetivos e sonhos.

Agradeço a minha orientadora, Professora Dra. Sylvia Moraes de Sousa Tinôco, pela orientação rigorosa, disponibilidade constante e incentivo ao longo de todas as fases deste trabalho, a sua experiência e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento desta dissertação. Agradeço também a minha coorientadora Dra. Mariana Lourenço Campolino, pela disponibilidade constante e ajuda no desenvolvimento do trabalho mesmo a distância e também pelos momentos vividos em Laboratório e fora dele.

Agradeço também aos colegas de projeto e laboratório Samuel Felipe Azevedo Galvão, Douglas Venâncio Alexandre da Silva, Nataly Figueiredo Ferreira, Rafaela Ferreira Ávila de Souza, André Luís Martins Maia, Jonnathan Whiny Moraes dos Santos pela amizade, convívio e ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos e amigas, obrigada pelo apoio emocional e pelas palavras de motivação nos momentos mais exigentes.

Por fim, agradeço a todas as pessoas da Universidade Federal de São João del-Rei, Embrapa Milho e Sorgo (em especial do Núcleo de Biologia Aplicada), Embrapa Pesca e Aquicultura (Dr. Rodrigo Munhoz e equipe) e Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (Dr. Rafael Felipe Ratke e equipe), que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos, o meu sincero obrigado.

DE AVELAR, JOÃO VITOR SILVERIO ALVES (MS). Universidade Federal de São João del-Rei, Junho de 2025. **Avaliação do uso do inoculante a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato na cultura e microbiota do milho em diferentes tipos de manejo da adubação fosfatada em solos do Mato Grosso do Sul e Tocantins.** Orientadora: Sylvia Morais de Sousa Tinôco. Coorientadora: Dra. Mariana Lourenço Campolino.

RESUMO

A utilização de inoculantes microbianos tem se destacado como alternativa ecologicamente sustentável à agricultura convencional baseada no uso intensivo de fertilizantes químicos. O BiomaPhos® é um inoculante composto por duas estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato (CNPMS B119 e CNPMS B2084), com potencial para aumentar a produtividade em diferentes culturas. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação com BiomaPhos® sobre a cultura do milho e a microbiota rizosférica, sob diferentes doses de adubação fosfatada, em duas regiões do Brasil — Mato Grosso do Sul (MS) e Tocantins (TO). No MS, o experimento foi conduzido em duas áreas contrastantes: uma com Sistema de Plantio Direto (SPD) consolidado e outra com SPD recém-implantado, em delineamento fatorial 2×5 (com e sem inoculação $\times$ cinco doses de P_2O_5). No TO, foi utilizado delineamento semelhante, também em SPD, com variação nas doses de P_2O_5 . As variáveis avaliadas incluíram produtividade, arquitetura do sistema radicular (ASR), colonização micorrízica, atividade das fosfatases e diversidade genética da comunidade bacteriana, estimada por T-RFLP e identificações com o software MiCA3. Os resultados demonstraram que o SPD consolidado no MS promoveu maior desenvolvimento radicular, maior colonização micorrízica e maior produtividade. A inoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato (BSFs) favoreceu raízes mais robustas em ambas as regiões, com efeito sinérgico quando associada a doses intermediárias de adubação. Observou-se modulação da composição da comunidade bacteriana, embora sem impacto significativo sobre os índices de diversidade. No TO, os efeitos da inoculação foram

mais evidentes na segunda safra, indicando maior estabilidade funcional das BSFs ao longo do tempo. Os achados reforçam o papel da inoculação com BSFs como ferramenta complementar para o manejo sustentável da adubação fosfatada, com impactos agronômicos e microbiológicos promissores. Estudos de longa duração são recomendados para compreender a persistência e eficácia desses inoculantes em diferentes contextos edafoclimáticos

Palavras-Chave: Bioinoculante; diversidade genética; fósforo; T-RFLP; *Zea mays*.

DE AVELAR, JOÃO VITOR SILVERIO ALVES (MS). Universidade Federal de São João del-Rei, June 2025. **Evaluation of the use of an inoculant based on phosphate-solubilizing bacterial strains in corn crops and microbiota in different types of phosphate fertilizer management in soils in Mato Grosso do Sul and Tocantins.** Advisor: Sylvia Moraes de Sousa Tinôco. Co-advisor: Dr. Mariana Lourenço Campolino.

ABSTRACT

The use of microbial inoculants has emerged as an ecologically sustainable alternative to conventional agriculture based on the intensive use of chemical fertilizers. BiomaPhos® is an inoculant composed of two phosphate-solubilizing bacterial strains (CNPMS B119 and CNPMS B2084), with the potential to increase productivity in different crops. This study aimed to evaluate the effects of inoculation with BiomaPhos® on maize and rhizosphere microbiota, under different doses of phosphate fertilization, in two regions of Brazil — Mato Grosso do Sul (MS) and Tocantins (TO). In MS, the experiment was conducted in two contrasting areas: one with a consolidated No-Tillage System (NTS) and the other with a recently implemented NTS, in a 2 × 5 factorial design (with and without inoculation × five rates of P₂O₅). In TO, a similar design was used, also in NTS, with varying doses of P₂O₅. The evaluated traits included grain yield, root system architecture (RSA), mycorrhizal colonization, phosphatase activity and genetic diversity of the bacterial community, estimated by T-RFLP and identified by MiCA3 software. The results demonstrated that the NTS consolidated in MS promoted greater root development, greater mycorrhizal colonization and higher productivity. Inoculation with phosphate solubilizing bacteria (PSB) favored more robust roots in both regions, with a synergistic effect when associated with intermediate fertilizer doses. Modulation of the composition of the bacterial community was observed, although without a significant impact on the diversity indices. In TO, the effects of inoculation were more evident in the second harvest, indicating greater functional stability of PSB over time. The findings reinforce the role of inoculation with PSB as a complementary tool for the sustainable management of phosphate fertilization, with promising

agronomic and microbiological impacts. Long-term studies are recommended to understand the persistence and efficacy of these inoculants in different soil and climate contexts

Keywords: Bioinoculant; genetic diversity; phosphorus; T-RFLP; *Zea mays*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Raízes de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022.	56
Figura 2. Raízes de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2022/2023.	57
Figura 3. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética bacteriana do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	59
Figura 4. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética bacteriana do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	60
Figura 5. Abundância relativa dos filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	61
Figura 6. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética de FMA do solo de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	65
Figura 7. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética de FMA do solo de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	66

Figura 8. Colonização micorrízica (%) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	67
Figura 9. Atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	68
Figura 10. Correlação linear de Pearson das características da arquitetura do sistema radicular (ASR) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	69
Figura 11. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022.	71
Figura 12. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) nas safras 2021/2022.	74
Figura 13. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022.	75
Figura 14. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2022/2023.	76
Figura 15. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) nas safras 2022/2023.	79
Figura 16. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD não consolidada (SPDNC) nas safras 2022/2023.	80
Figura 17. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética bacteriana do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	92

Figura 18. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética bacteriana do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	93
Figura 19. Abundância relativa dos filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	94
Figura 20. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética de FMA do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	97
Figura 21. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética de FMA do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	98
Figura 22. Atividade enzimática das Fosfatases Ácida e Alcalina do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	99
Figura 23. Correlação linear de Pearson das características da arquitetura do sistema radicular (ASR) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	100
Figura 24. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022.	102
Figura 25. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2022/2023.	104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise de amostras de solo coletadas na área experimental de Latossolo vermelho, na profundidade de 0-20 cm na área de Sistemas de Plantio Direto consolidado (SPDC) e não consolidado (SPDNC) no MS.	42
Tabela 2. Análise de amostras de solo coletadas na área experimental de Latossolo vermelho amarelo na profundidade de 0-20 cm, na fazenda Invernadinha do Tocantins em Paraíso do Tocantins, TO.	44
Tabela 3. Sigla e característica da arquitetura do sistema radicular (ASR) conforme Bucksch <i>et al.</i> , 2014.	46
Tabela 4. Análise de variância (ANOVA) da Produtividade (kg ha ⁻¹) e P resina (mg dm ³) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	52
Tabela 5. Valor da produtividade (kg ha ⁻¹) e P resina (mg dm ⁻³) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	52
Tabela 6. Análise de variância (ANOVA) das características radiculares de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	54
Tabela 7. Características radiculares de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	55
Tabela 8. Abundância relativa (%) dos Filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	62
Tabela 9. Índices de diversidade de Shannon, Simpson e Chao dos Filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com	

diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha ⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	63
Tabela 10. Contribuição das características da arquitetura do sistema radicular (ASR), Produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina nas safras de 2021/2022 e 2022/2023. 70	
Tabela 11. Contribuição das características da arquitetura do sistema radicular (ASR), Produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina nas áreas de SPD consolidado e não consolidado na safra de 2021/2022.	73
Tabela 12. Contribuição das características da arquitetura do sistema radicular (ASR), Produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina na área de SPD consolidado e não consolidado na safra de 2022/2023.	78
Tabela 13. Análise de variância (ANOVA) da Produtividade (kg ha ⁻¹) e P resina (mg dm ⁻³) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75 100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	87
Tabela 14. Produtividade (kg ha ⁻¹) e P resina (mg dm ⁻³) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75 100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	88
Tabela 15. Análise de variância (ANOVA) das características radiculares de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75,100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	89
Tabela 16. Características radiculares de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75,100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	90
Tabela 17. Abundância relativa (%) dos Filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75,100, 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	95
Tabela 18. Índices de diversidade de Shannon, Simpson e Chao dos Filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75,100, 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.	95

Tabela 19. Análise de variância (ANOVA) da colonização micorrízica arbuscular (%) da rizosfera de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022.	98
Tabela 20. Colonização micorrízica arbuscular (%) da rizosfera de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha ⁻¹) nas safras 2021/2022.	99
Tabela 21. Contribuição das características da arquitetura do sistema radicular (ASR), Produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina nas safras de 2021/2022 e 2022/2023. .	101

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO	26
2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	29
3 OBJETIVOS	41
4 METODOLOGIA	42
5.1 RESULTADOS	51
6.1 DISCUSSÃO	81
5.2 RESULTADOS	87
6.2 DISCUSSÃO	106
CONCLUSÃO GERAL	112
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

1 INTRODUÇÃO

De acordo com estimativas, a população mundial pode atingir cerca de 10 bilhões de pessoas até 2050, exigindo um aumento de 70% na produção de alimentos para atender à demanda (Jaraweh et al., 2023). Por isso, torna-se essencial buscar técnicas inovadoras que impulsionem a produtividade agrícola de maneira sustentável. O milho tem grande relevância econômica, sendo o terceiro cereal mais cultivado no mundo e base alimentar essencial para diversas culturas. Sua utilização abrange desde o consumo humano direto e processado até a alimentação animal, influenciando diretamente a cadeia produtiva de carne mundial (Shah et al., 2016). Além disso, o milho destaca-se na produção de biocombustíveis, uma alternativa cada vez mais sustentável aos combustíveis fósseis (Martinez & Fernandez, 2019).

Apesar de ser um dos maiores produtores de milho, o Brasil enfrenta desafios relacionados às características dos seus solos, geralmente marcados por alta saturação de alumínio (Al), acidez e baixa fertilidade natural. A baixa fertilidade está associada, sobretudo, à deficiência de nutrientes essenciais como fósforo (P), crucial para o crescimento vegetal (Richardson et al., 2009). Cerca de 70% das terras cultivadas no mundo sofrem com deficiência de P, cuja disponibilidade é reduzida pela reatividade com cátions como Ca^{2+} e Mg^{2+} em solos calcários ou Al^{3+} e Fe^{3+} em solos ácidos (López-Arredondo et al., 2014). Uma solução comum para aumentar a disponibilidade de P é o uso de fertilizantes fosfatados sintéticos (Fageria, 1998). Contudo, o uso contínuo e indiscriminado desses insumos pode causar impactos negativos nos ecossistemas agrícolas (Sharma & Singhvi, 2017). Assim, são necessárias estratégias mais sustentáveis para reduzir a dependência de fertilizantes e otimizar a produtividade agrícola.

Os inoculantes microbianos representam uma alternativa viável na agricultura para melhorar a disponibilidade de nutrientes no solo e reduzir a dependência de fertilizantes químicos sintéticos (Zongzheng et al., 2009; Mendes et al., 2014). Esses inoculantes podem ser produzidos com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), que interagem com as plantas e auxiliam na solubilização de fósforo (P) e na absorção de nitrogênio (N) (Tabassum et al., 2017; Glick, 2015; Rai, 2020). A inoculação microbiana impacta mais a diversidade

microbiológica do solo do que as interações entre microrganismos nativos de vida livre (Zhang et al., 2010; Trabelsi et al., 2017). Contudo, introduzir microrganismos em um novo ambiente é desafiador, já que estudos mostram que comunidades microbianas residentes possuem mecanismos de defesa contra bactérias introduzidas (Björklöf et al., 2003). Isso ocorre devido à vantagem evolutiva da microbiota nativa, conhecida como efeito de prioridade, onde os microrganismos residentes são mais adaptados ao nicho ecológico e competem melhor por recursos, também influenciados pela densidade populacional (De Meester et al., 2016; Debray et al., 2022).

Ao compreender a microbiota nativa e seus mecanismos de defesa, como o efeito de prioridade (De Meester et al., 2016; Debray et al., 2022), pode-se também ajustar estratégias para maximizar os benefícios da inoculação como a escolha de espécies com alto potencial competitivo ou complementares às funções da microbiota nativa. Por meio de ajustes de dose e densidade das bactérias inoculadas, associadas a práticas “prebióticas”, que são responsáveis pela modulação do ambiente agrícola para favorecer a microbiota benéfica para os mecanismos funcionais daquele sistema (Arif & Batool & Schenk, 2020), é possível alcançar maior efetividade nos agroecossistemas promovendo maior sustentabilidade. A inoculação bacteriana pode causar diferentes alterações nas atividades ecológicas das comunidades microbianas já residentes no solo, sendo fundamental uma maior compreensão dos efeitos produzidos pela inoculação.

Em 2019, por meio de uma parceria entre Embrapa e a empresa Bioma, foi desenvolvido o primeiro bioinoculante solubilizador de fósforo do Brasil, chamado BiomaPhos® (<https://www.bioma.ind.br/produto/bioma-phos>). Este produto é formulado pelo consórcio de duas estirpes bacterianas *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Priestia megaterium* (= *Bacillus megaterium*) (CNPMS B119), essas bactérias presentes no produto colonizam a rizosfera vegetal, sendo responsáveis pela solubilização de P fixado em Ca, Al e Fe presentes no solo. A inoculação com BiomaPhos® levou ao aumento significativo da produtividade de milho nos estados do Paraná, Bahia, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás, com um ganho médio de 8,9% (Oliveira-Paiva et al. 2020; Oliveira-Paiva et al., 2024). O inoculante BiomaPhos® tem mostrado resultados positivos, sendo

utilizado em cerca de milhares hectares desde seu lançamento. Já avaliado em diversas áreas comerciais de milho, soja e cana-de-açúcar seu uso está em expansão para outras culturas. Experimentos e relatos de produtores indicam ganhos de produtividade variáveis conforme a região. Contudo, é essencial avaliar criteriosamente o acesso às reservas de P no solo, as alterações da arquitetura da planta e a redução da adubação fosfatada, ajustando seu uso de acordo com a adubação e o tipo de solo para otimizar o desempenho em diferentes regiões do Brasil.

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo compreender o efeito da inoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato na cultura do milho, considerando diferentes tipos de solo, doses de adubo fosfatado e sistemas de produção ao longo de duas safras.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MILHO NO BRASIL

O milho, pertencente à família Poaceae (gramíneas), tem sua origem debatida desde o século XIX. Três teorias principais sobre a origem evolutiva do milho foram postuladas. A primeira propôs que o milho é o resultado do cruzamento de teosinto com o gênero *Tripsacum*, pertencente à família Poaceae. A segunda é que ele vem do milho tunicata e que teosinto é o resultado do cruzamento do gênero *Zea* com gênero *Tripsacum*. A terceira hipótese e mais popular, é que o milho evoluiu do teosinto selvagem, encontrado no México, Guatemala e Honduras (Garcia Lara & Serna Saldivar, 2019). Descobriu-se que teosinto e *Tripsacum* não podiam cruzar na natureza, nem em condições de laboratório (Wilkes, 1972), posteriormente estudos genéticos confirmaram sua ancestralidade ligada ao teosinto, influenciado pela seleção de linhagens feita por povos originários da América Central (Beadle, 1980). O milho moderno tornou-se um cereal altamente domesticado e dependente da intervenção humana, pois sua elevada produção de grãos demanda mecanismos eficientes de dispersão de sementes (Beadle, 1980).

A cultura do milho no Brasil começou com os povos indígenas, que tinham a mandioca e o milho como base da alimentação, posteriormente os portugueses introduziram o milho na alimentação e também passaram a utilizar o milho na alimentação animal. Na década de 70 a produção brasileira de milho era de aproximadamente 20 milhões de toneladas (MAPA, 2024). Estima-se que a produção de milho na safra 2024/2025 no Brasil será de 119.522,1 mil toneladas. Na safra 2022/2023 foi observado um montante recorde de 131,89 milhões de toneladas. Houve um aumento médio de 5,2% na produção nos últimos 20 anos, sendo o Centro Oeste do Brasil a região com maior cultivo, o que equivale a cerca de 60% da produção (CONAB, 2024).

Historicamente, o Brasil esteve entre os quatro maiores produtores de milho do mundo, mas sua participação era modesta, cerca de 5% entre as décadas de 1970 e 1990. Nos últimos anos, essa participação cresceu, atingindo 11,7% na

safrinha mundial de 2022/2023, que totalizou 1,15 bilhões de toneladas, posicionando o Brasil como o terceiro maior produtor global, atrás apenas dos Estados Unidos e da China (USDA, 2024). Esse avanço se deve, em grande parte, ao uso de técnicas de melhoramento genético e avanços biotecnológicos, que aumentaram a eficiência da produção no país (Da Silva *et al.*, 2021).

2.2 FÓSFORO E A FERTILIZAÇÃO FOSFATADA NO BRASIL

O fósforo (P) é um macronutriente fundamental para a vida, fazendo parte de diversas moléculas biológicas, tais como os ácidos nucleicos, coenzimas, fosfoproteínas e fosfolípidos (Tamburini *et al.*, 2012). O ciclo do fósforo ocorre de forma isolada em cada ecossistema (Liu *et al.*, 2020), diferentemente dos ciclos do nitrogênio e carbono, que possuem formas gasosas estáveis em condições atmosféricas normais (Falkowski *et al.*, 2008). Apenas pequenas quantidades de ácido fosfórico (H_3PO_4) estão presentes na atmosfera, contribuindo para chuvas ácidas. O ciclo do fósforo está ligado às rochas fosfáticas e sedimentares, principais reservatórios terrestres e marinhos. Seu fluxo é unidirecional, indo dos ecossistemas terrestres aos aquáticos por intemperismo e denudação das rochas (Liu *et al.*, 2020). Enquanto os ciclos do carbono e nitrogênio são amplamente estudados, o impacto das mudanças climáticas e atividades biológicas no ciclo do fósforo ainda é pouco explorado (Hou *et al.*, 2018).

Os solos podem conter reservas de P muito superiores às necessidades das plantas, mas apenas uma pequena fração solúvel está disponível para elas (Bindraban *et al.*, 2020). Isso se deve à distribuição irregular do P em solos altamente intemperizados (Villar *et al.*, 2010). Nestes solos, predominam minerais como caulinitas, óxidos de ferro e óxidos de alumínio, que possuem carga positiva, conferindo alta capacidade de adsorver ânions como o fósforo, reduzindo sua disponibilidade para as plantas (Valladares *et al.*, 2003). Essa limitação é comum na agricultura, levando ao uso intensivo de adubação fosfatada para corrigir deficiências em grandes culturas (Villar & Villar, 2013; Novais & Smyth, 1999). O uso global de fertilizantes fosfatados aumentou de 4,6 milhões de toneladas na

década de 1960 para cerca de 21 milhões em 2015, com estimativas apontando uma demanda de 27 milhões de toneladas até 2050 (Mongollon et al., 2018).

O fósforo é um dos nutrientes mais utilizados na adubação no Brasil, mas é o menos disponível para as plantas, sendo que apenas 15% a 20% do P aplicado é aproveitado (Klein & Agne, 2012). Por isso, a recomendação de adubação fosfatada costuma exceder a necessidade das culturas. O uso anual de fertilizantes fosfatados no Brasil cresceu de 0,04 milhões de toneladas em 1960 para cerca de 2,2 milhões de toneladas em 2016, impulsionando a Revolução Verde no país. No entanto, o insumo é aplicado em quantidade cerca de duas vezes maior que a demanda das plantas (Withers et al., 2018). Além disso, o uso excessivo de P contribui para a eutrofização de águas continentais (Onodera et al., 2020).

2.3 BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO

Com a nova dinâmica mundial, e em particular com as estratégias “Do prado ao prato” e “Biodiversidade”, no âmbito da Comissão do Pacto Ecológico Europeu, estão sendo tomadas medidas para reduzir em 50% a utilização e o risco de pesticidas químicos até 2030 (Fetting, 2020). O uso excessivo e prolongado de insumos químicos é prejudicial aos ecossistemas agrícolas (Sharma & Singhvi, 2017), destacando a necessidade de tecnologias que aumentem a produtividade sem comprometer o ambiente, promovendo uma agricultura mais sustentável.

Dessa forma, a aplicação de microrganismos surge como uma alternativa viável para melhorar a disponibilidade de nutrientes no solo e reduzir a dependência de fertilizantes (Zongzhen et al., 2009; Mendes et al., 2014). Algumas bactérias associadas às plantas possuem mecanismos que promovem a solubilização do fósforo, melhorando sua absorção. Isso ocorre por meio da exsudação de ácidos orgânicos, que dissolvem fosfato rochoso ou solubilizam fósforo fixado em íons de Al e Fe no solo (Tabassum et al., 2017; Rai, 2020; Walia et al., 2017).

Diversos gêneros bacterianos, como *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Acinetobacter*, *Erwinia*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* e *Bacillus*, são conhecidos por sua capacidade de solubilizar fósforo, desempenhando papel essencial no ciclo biogeoquímico desse nutriente ao torná-

lo disponível para as plantas (Villegas & Fortin, 2002). O fósforo no solo está presente em formas orgânicas e inorgânicas, e as bactérias solubilizadoras de fósforo (BSPs) empregam diversos mecanismos para sua solubilização (Richardson et al., 2009)

No caso do fósforo inorgânico, BSPs produzem ácidos orgânicos, como acetato, láctico, oxálico, tartárico, succínico e principalmente ácido glucônico (Ahmad & Shahab, 2011), que atuam dissolvendo diretamente os compostos fosfatados e/ou quelando os cátions associados ao ânion fosfato (Gerke, 1992; Richardson & Simpson, 2011). Em alguns solos, até 90% do fósforo total pode vir da solubilização de fósforo orgânico (Khan et al., 2009). Outro mecanismo envolve o bombeamento de prótons associado à assimilação de NH_4^+ , resultando na liberação de prótons que favorecem a solubilização do fósforo (Carrillo et al., 2002). Além disso, sideróforos e exopolissacarídeos também desempenham um papel nesse processo (Walia et al., 2017). As BSPs também produzem enzimas, como fosfatases e fitases, para promover a solubilização do fósforo. As fosfatases catalisam a clivagem de compostos orgânicos fosforados, sendo as fosfomonoesterases a classe mais estudada (Nannipieri et al., 2011). Já as fitases degradam o fitato, uma forma de fósforo de baixa disponibilidade para as plantas, liberando esse nutriente por meio da ação de microrganismos solubilizadores de fosforo (Richardson & Simpson, 2011).

O interesse por BSPs cresceu significativamente, com mais de 4.000 estudos publicados na última década. Essas pesquisas focam no papel dos microrganismos na solubilização de fósforo e no desenvolvimento de tecnologias que aprimorem a eficiência da utilização de fosfato de rocha (Elhaisoufi et al., 2022).

2.4 BIOINOCULANTES BACTERIANOS

O crescimento populacional tem impulsionado continuamente a busca por soluções para suprir a demanda por alimentos. Inicialmente, a expansão das áreas agrícolas foi a principal abordagem, porém, com a limitação de terras cultiváveis e a crescente necessidade de práticas sustentáveis, os bioinoculantes emergiram

como alternativas promissoras para aumentar a produtividade de forma ecologicamente equilibrada (Godfray et al., 2010; Santos et al., 2019).

Bioinoculantes, produzidos com BPCPs, auxiliam na solubilização de P e absorção de nitrogênio (N) pelas plantas, dentre outros benefícios (Tabassum et al., 2017; Glick, 2020; Rai, 2020). Entre os primeiros microrganismos usados, destacam-se os rizóbios, bactérias diazotróficas que formam nódulos nas raízes das plantas hospedeiras, e *Azospirillum*, amplamente utilizado na fixação biológica de nitrogênio (Santos et al., 2019).

O Brasil possui tradição no uso de microrganismos na agricultura, diferindo da abordagem global focada na adubação nitrogenada. Desde 1964, com os trabalhos da Dra. Johanna Döbereiner, o país investiu na fixação biológica de nitrogênio, incluindo a descoberta da capacidade promotora de crescimento do *Azospirillum* em gramíneas. Apenas em 2009 as estirpes comerciais de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) foram liberadas para milho e trigo (Hungria, 2010). Atualmente, a soja lidera globalmente no uso de inoculantes, especialmente com *Bradyrhizobium*, sendo o Brasil responsável por 77% do consumo global. No país, o milho e a cana-de-açúcar seguem com 16% e 2%, respectivamente (ANPIL, 2024).

Inicialmente, os inoculantes eram comumente compostos por uma única espécie microbiana ou estirpe. Atualmente, a coinoculação, que combina diferentes microrganismos como *Bradyrhizobium* spp., *Azospirillum* spp., e *Bacillus* spp., vem ganhando destaque por integrar mecanismos complementares, como fixação de nitrogênio, produção de fitormônios e solubilização de fosfato, resultando em melhores desempenhos agrícolas (Santos et al., 2019). Li et al. (2023) também descreveu efeito positivo do uso de inoculantes microbianos no aumento significativamente de vários parâmetros microbianos do solo, incluindo biomassa bacteriana e fúngica.

Outras BPCPs, como *Pseudomonas* (produtoras de sideróforos) e *Bacillus* (solubilizadores de fosfato), têm sido estudadas como inoculantes em milho, ampliando as opções para uma agricultura mais sustentável. Em 2019, por meio de uma parceria entre Embrapa e a empresa Bioma, foi desenvolvido o primeiro

bioinoculante solubilizador de fósforo do Brasil, denominado BiomaPhos®. Este produto é formulado pelo consórcio de duas estirpes bacterianas *Bacillus subtilis* (CNPMS 2084) e *Priestia megaterium* (CNPMS 119) (<https://www.bioma.ind.br/produto/bioma-phos>).

Este inoculante líquido, recomendado tanto para o tratamento de sementes quanto para pulverização em sulcos de semeadura, começa a se associar à planta desde o início da formação das raízes. As bactérias presentes no produto se multiplicam e colonizam a rizosfera vegetal, promovendo a mineralização e solubilização de P, por meio da produção de ácidos orgânicos que solubilizam o fósforo fixado em cátions como cálcio (Ca), alumínio (Al) e ferro (Fe) na rizosfera, tornando esse nutriente disponível para absorção pela planta (Velloso et al., 2020; de Sousa et al., 2021; Oliveira-Paiva et al., 2024). Estudos demonstraram que a inoculação com BiomaPhos® resultou em um aumento significativo na produtividade do milho em estados como Paraná, Bahia, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás, com um ganho médio de 8,9% (Oliveira-Paiva et al., 2020; Oliveira-Paiva et al., 2024).

2.5 EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE BIOINOCULATES ASSOCIADO A ADUBAÇÃO FOSFATADA NAS PLANTAS

Em condições de estresse as plantas tem suas funções fisiológicas comprometidas, principalmente devido ao estresse oxidativo, comprometendo por consequência o crescimento e desenvolvimento, que são fundamentais para produtividade agrícola. Os bioinoculantes podem ser utilizados como estratégia para promover maior tolerância a estresses bióticos e abióticos, podendo ser utilizados combinados ou separados, sendo inoculados em sementes, raiz ou solo, esses microrganismos podem ser colonizadores da rizosfera ou endofíticos, responsáveis pela estímulo do crescimento (Lopes et al., 2021).

O crescimento e desenvolvimento da planta é regulado pelas citocininas e as auxinas que desempenham funções importantes, assim como no desenvolvimento radicular tendo funções opostas (Shaikh et al., 2022). A produção supra fisiológica desses dois fitormônios, estimulada pela inoculação com

microrganismos promotores de crescimento, tem forte importância no desenvolvimento da estrutura do sistema radicular, visto que o formato e desenvolvimento da raiz tem forte relação com o equilíbrio em citocininas e as auxinas (Aloni et al., 2006). Além disso, melhoras na germinação de sementes também são observadas com a utilização dos bioinoculantes devido ao aumento da giberelina, assim como promoção do crescimento de raiz devido a indução de produção de citocinina (Gouda et al., 2018; Khan et al., 2020).

Outro efeito importante da inoculação de microrganismos está relacionado à produção de ácido indol-3-acético (AIA), um tipo de auxina que promove o alongamento da raiz primária (Perrig et al., 2007). No entanto, a produção exógena de fitormônios, como giberelinas, citocininas, ácido abscísico, etileno, brassinosteroides e outras auxinas, pode também causar a desaceleração do crescimento da raiz primária, ao mesmo tempo em que estimula a formação de raízes laterais e de pelos radiculares (Sureshbabu et al., 2016).

Atualmente a utilização de inoculantes microbianos vem sendo alvo de muitos estudos, sendo uma alternativa viável em detrimento do modelo de agricultura convencional, baseado na adubação química, que comprovadamente se torna prejudicial para os agroecossistemas a longo prazo (Mendes et al., 2014; Oliveira-Paiva et al., 2024).

Nesse contexto, a abordagem do efeito sinérgico entre a inoculação de bactérias solubilizadoras de fósforo (BSPs) e a adubação fosfatada tem sido amplamente estudada. Em trigo, foram observados efeitos positivos da inoculação com BSPs, com maior absorção de fósforo pelas plantas à medida que as doses de P aumentaram de 60 para 120 kg de P_2O_5 ha⁻¹. De modo geral, isso resultou em melhoria nos atributos de produtividade e na eficiência do uso do fósforo, em comparação com a aplicação isolada da adubação fosfatada (Hussain et al., 2019).

Outro estudo, também com trigo, demonstrou que a aplicação de BSPs associada a 100% da dose recomendada de fósforo aumentou significativamente o número de grãos e o rendimento biológico. Houve ainda melhora expressiva no peso de 100 grãos e na taxa de fotossíntese, confirmando a eficácia da associação entre BSPs e a adubação fosfatada (Alam et al., 2022).

Para o milho, estudos observaram que a utilização da inoculação de BSPs associada a inoculação permitia a redução da adubação fosfatada. Adnan et al. (2018) observou que a adubação poderia ser reduzida de 120 kg de P_2O_5 ha⁻¹ para 90 kg de P_2O_5 há⁻¹, mantendo rendimento da cultura, já Beltran-Medina et al. (2023), observou um aumento da produtividade com a utilização de BSPs, associado a 50% da adubação fosfatada recomenda em milho. Além disso outro estudo também relata os efeitos da redução da adubação fosfatada associada a inoculação microbiana, promovendo aumento na abundancia relativa de gêneros benéficos como *Bacillus* e *Penicillium* (Liu et al., 2022).

2.6 USO DO POLIMORFISMO DE COMPRIMENTO DE FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO TERMINAL (T-RFLP) PARA MONITORAMENTO DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA

A rizosfera é a área compartilhada entre as raízes das plantas e o solo, onde se encontra uma comunidade complexa de microrganismos, comumente chamada de microbioma rizosférico. Esta comunidade inclui todos os domínios da vida microbiana, como arqueias, bactérias, fungos e vírus (White III et al., 2017). A estrutura dessa comunidade é influenciada por fatores como o fluxo de carbono orgânico, nutrientes minerais e água, que, por sua vez, impactam os processos ecológicos do solo. Além disso, os exsudatos radiculares e os metabólitos secundários das plantas também desempenham um papel importante, atraindo microrganismos que contribuem para a fertilidade e a melhoria do ecossistema radicular (Priya et al., 2021).

Embora o microbioma rizosférico seja fundamental para o funcionamento da planta, a diversidade microbiana dessa região ainda é amplamente desconhecida, pois apenas cerca de 5% dos microrganismos foram cultivados utilizando técnicas tradicionais. Nesse contexto, o microbioma rizosférico tem um papel crucial em diversos processos biológicos dentro do ecossistema, tornando essencial o aprofundamento do entendimento sobre os processos funcionais que ocorrem nesse ambiente (Hinsinger et al., 2009; Pantigoso, Newberger & Vivanco, 2022).

O desenvolvimento das técnicas moleculares e das abordagens 'ômicas' tem desempenhado um papel fundamental na ampliação do conhecimento sobre as comunidades microbianas, particularmente na rizosfera. Essas técnicas, por serem independentes do cultivo tradicional de microrganismos, permitem a análise direta do material genético e funcional presente no ambiente, revelando uma diversidade microbiana antes inacessível. A década de 90 marcou uma revolução nos estudos de microrganismos com o advento da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e o uso de marcadores moleculares baseados nas subunidades ribossomais rRNA 16S para procariotos e rRNA 18S para eucariotos, o que permitiu um grande avanço na identificação e caracterização de microrganismos. Esse avanço também levou à criação de vários bancos de dados baseados em ácidos nucleicos e proteínas, como o GenBank e UniProt (Sørensen et al., 2009).

Diversas técnicas analíticas, como a análise de ácidos graxos fosfolipídicos (PLFA), a eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE), e ensaios de hibridização de DNA, têm sido empregadas para estudar as comunidades rizosféricas. Além disso, a combinação de várias dessas técnicas tem contribuído significativamente para o entendimento da composição e funcionalidade desses microbiomas (Soderberg et al., 2004).

O sequenciamento de nova geração (SNG) é uma ferramenta poderosa que vem sendo utilizada para estudar os efeitos sobre as comunidades microbianas na rizosfera. Recentemente estudos utilizando a técnica de sequenciamento com a tecnologia MiSeq (Illumina) foi utilizado para analisar como a inoculação de *Paenibacillus* sp. B2 (PB2), influencia as comunidades bacterianas e fúngicas na rizosfera do trigo (Samain et al., 2023). Essa mesma técnica foi utilizada para investigar a inoculação de milho com a bactéria *Azospirillum brasilense* (Ferrarezi et al., 2023).

A amplificação de genes ribossomais associada a técnicas de impressão digital molecular, como a análise de polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP), análise de restrição de rDNA amplificado (ARDRA) e sequenciamento, possibilitou uma melhor compreensão do perfil genético das comunidades rizosféricas (Priya, Aneesh & Harikrishnan, 2021). O Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição Terminal (T-RFLP), desenvolvido por Liu

et al. (1997), se destaca por sua simplicidade e baixo custo, sendo amplamente utilizado em estudos de diversidade genética.

O T-RFLP é um método molecular (Liu et al.1997), aplicado ao estudo da ecologia de microrganismos em sistemas complexos como o solo, que gera um perfil da comunidade. É caracterizado como uma técnica que visa avaliar a diversidade microbiana e comparar a estrutura comunitária de bactérias em diferentes ambientes permitindo estudar mudanças estruturais na rizosfera da comunidade microbiana sob diferentes condições.

As etapas da análise T-RFLP incluem (1) a coleta da amostra e extração do DNA da comunidade microbiana do solo, (2) amplificação do DNA por PCR utilizando oligonucleotídeos marcados com fluorescência, (3) limpeza de produtos de PCR para remover sais e iniciadores, (4) digestão com endonucleases de restrição capazes de reconhecer sequências específicas de bases na fita dupla de DNA e que clivam em pontos específicos, produzindo diferentes fragmentos terminais (T-RFs), e (5) análise comparativa com dados de análises *in silico* de bancos de dados para inferir a composição potencial de espécies das amostras (Liu et al., 1997; Tiedje et al., 1999).

Recentemente, a metodologia T-RFLP foi empregada para avaliar a diversidade genética da comunidade bacteriana na rizosfera do milho, demonstrando que a fonte de fósforo tem um impacto significativo na estrutura dessa comunidade bacteriana (Campolino et al., 2022). Esses avanços técnicos têm sido essenciais para aprofundar o entendimento sobre as dinâmicas microbianas na rizosfera e sua relação com a fertilidade do solo.

2.6 COMPOSIÇÃO MICROBIANA E EFEITO DE PRIORIDADE: DESAFIOS PARA A INOCULAÇÃO EM SOLOS ARENOSOS E ARGILOSOS DO BRASIL

No Brasil, a agricultura se desenvolveu predominantemente em solos argilosos. Contudo, nos últimos anos, as fronteiras agrícolas têm avançado para áreas de solos arenosos, especialmente nos estados de Tocantins, Piauí, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraná. Fatores como tipo de solo

e distúrbios, como percolação e remoção da cobertura vegetal, podem afetar a eficácia da inoculação bacteriana (Bashan et al., 1995).

O Latossolo Vermelho é um tipo de solo que apresenta cores vermelhas acentuadas devido aos altos teores de óxidos de ferro presentes no material originário. Esses solos são profundos, bem drenados e possuem alta capacidade de retenção de água, mas apresentam baixa fertilidade natural devido à alta acidez e baixos níveis de nutrientes disponíveis, são os solos mais representativos do Brasil, ocupando aproximadamente 39% da área total do país e distribuídos praticamente por todo o território nacional, são identificados em extensas áreas na região Centro-Oeste, como é caso da região de Chapadão do Sul (EMBRAPA, 2024).

O Tocantins é uma das novas fronteiras agrícolas, destacando-se pela presença de Plintossolos (Seplan, 2012). Esse tipo de solo, caracterizado pela plintita, uma mistura de argila e óxidos de ferro, apresenta baixa concentração de carbono e alta acidificação (EMBRAPA, 2024). Comparados aos Latossolos, os Plintossolos, devido às concreções ferruginosas, podem exigir maior alocação de fotoassimilados para o desenvolvimento radicular, já que essas concreções restringem o crescimento das raízes (Nikkel e De Oliveira Lima, 2019).

Nesse contexto, práticas de manejo como a sucessão de culturas em sistemas de plantio direto (SPD) surgem como alternativas eficientes para mitigar as limitações impostas pelos Plintossolos, favorecendo o desenvolvimento radicular e contribuindo para a melhoria das condições do solo. A sucessão de culturas em sistemas de plantio direto (SPD) traz benefícios expressivos à produtividade agrícola, pois a decomposição da palhada, a produção de fitomassa e o ciclo de nutrientes impactam positivamente o cultivo (Xavier et al., 2019). Além disso, práticas conservacionistas geralmente melhoram a qualidade do solo, aumentando o teor de matéria orgânica (Hobbs et al., 2008) e promovendo maior diversidade microbológica.

Sistemas de cultivo influenciam a composição da microbiota do solo, apresentando diferenças significativas entre comunidades (Mathew et al., 2012; Feng et al., 2003; Smith et al., 2016). Estudos indicam que a sucessão de culturas

aumenta a diversidade bacteriana. Uma revisão recente envolvendo 76 artigos apontou ganhos significativos em sistemas de rotação de culturas (Liu et al., 2023). Técnicas de metagenômica também mostram maior biodiversidade rizosférica em sucessões de culturas, quando comparadas à monocultura (Fadiji et al., 2021).

Outro aspecto relevante é a resiliência das comunidades microbianas nativas, que possuem mecanismos de defesa contra bactérias externas, como inoculantes (Björklöf et al., 2003). Esse fenômeno, chamado efeito de prioridade, confere vantagem à microbiota residente, que já está adaptada ao ambiente e possui maior densidade populacional, otimizando a competição por recursos (De Meester et al., 2016; Debray et al., 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do uso de um inoculante a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato em diversos aspectos da cultura e da microbiota rizosférica do milho cultivado sob diferentes tipos de manejo da adubação fosfatada em diferentes regiões brasileiras.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos da interação de diferentes tipos de manejo da adubação fosfatada com o uso do inoculante a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato na produtividade do milho em diferentes tipos de solo.
- Avaliar o efeito do uso do inoculante a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato na diversidade e atividade microbiana rizosférica do milho sob diferentes tipos de manejo da adubação fosfatada.
- Avaliar o efeito de diferentes tipos de manejo da adubação fosfatada com o uso do inoculante a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato na arquitetura radicular do milho.

4 METODOLOGIA

4.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL NO MATO GROSSO DO SUL

O experimento foi instalado nas safras 2020/2021, e 2021/2022 na Fazenda Campus Escola da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul - MS, nas coordenadas geográficas, 18°46'17,9" de latitude Sul; 52°37'25,0" de longitude Oeste e altitude média de 810 m. O clima da região é definido como tropical com estação seca (Aw), segundo a classificação de Köppen, com temperatura média anual de 25 °C e precipitação média anual entre 1600 à 1800 mm. O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico típico conforme o Sistema Brasileiro de Classificação do Solo (SANTOS et al., 2018).

Foi avaliada a aplicação do BiomaPhos® em combinação com diferentes doses de fósforo no cultivo de milho, em duas áreas e ao longo de duas safras. A primeira área corresponde a um Sistema de Plantio Direto (SPD) consolidado, com alto teor de fósforo (Alto P), enquanto a segunda refere-se a um SPD recentemente adotado, com baixo teor de fósforo (Baixo P), conforme a análise de fertilidade do solo (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de amostras de solo coletadas na área experimental de Latossolo vermelho, na profundidade de 0-20 cm na área de Sistemas de Plantio Direto não consolidado (SPDC) e consolidado (SPDNC) no MS.

	Profundidade	Cmolc dm ⁻³									H ₂ O
SPDNC	0-20	Ca+Mg	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	V%	SB	PH
		4,9	0,5	3,9	1	4,2	0	9,6	56,25	5,4	4,5
		mg dm ⁻³						g kg ⁻¹			
		K	P	Cu	Fe	Mn	Zn	M.O	Argila	Silte	Areia
		196	5	1,3	148	16,7	3,5	30	480	25	495
	Profundidade	Cmolc dm ⁻³									H ₂ O
SPDC	0-20	Ca+Mg	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	V%	SB	PH
		3,8	0,4	3,39	0,43	4,224	0	8,4	49,9578	4,2	5,98
		mg dm ⁻³						g kg ⁻¹			
		K	P	Cu	Fe	Mn	Zn	M.O	Argila	Silte	Areia
		156,4	10,9	0,85	69,99	13,45	134,5	26,87	480	25	495

Ca+Mg cmol_c dm⁻³: relação de cálcio mais magnésio por centímol de carga por decímetro cúbico; K cmol_c dm⁻³: potássio por centímol por decímetro cúbico; Ca cmol_c dm⁻³: cálcio por centímol por decímetro cúbico; Mg cmol_c dm⁻³: magnésio por centímol por decímetro cúbico; H+Al cmol_c dm⁻³: relação entre hidrogênio e alumínio por centímol por decímetro cúbico; Al cmol_c dm⁻³: alumínio por centímol por decímetro cúbico; CTC mmol_c dm⁻³: capacidade de troca de cátions por milímol de carga por decímetro cúbico; V%: percentagem de saturação por bases; SB cmol_c dm⁻³: soma de bases trocáveis (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺) por centímol de carga por decímetro cúbico; pH (H₂O): medida da acidez do solo em suspensão aquosa; K mg dm⁻³: potássio por miligrama por decímetro cúbico; P mg dm⁻³ (resina): fósforo por miligrama por decímetro cúbico, extraído pelo método da resina; Cu mg dm⁻³: cobre por micrograma por decímetro cúbico; Fe mg dm⁻³: ferro por micrograma por decímetro cúbico; Mn mg dm⁻³: manganês por micrograma por decímetro cúbico; Zn mg dm⁻³: zinco por micrograma por decímetro cúbico; MO dag x10g kg⁻¹: matéria orgânica por decagrama por quilo; Areia g kg⁻¹: areia por grama por quilograma; Silte g kg⁻¹: silte por grama por quilograma; Argila g kg⁻¹: argila por grama por quilograma.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, com três repetições, em parcelas de 20 m². Os tratamentos foram organizados em esquema fatorial 5 × 2, sendo o primeiro fator composto por cinco doses de P₂O₅ e o segundo pela presença ou ausência do bioinoculante BiomaPhos (100 mL ha⁻¹), aplicado via tratamento de sementes, de acordo com Oliveira-Paiva et al (2024).

As doses de P₂O₅ variaram conforme o histórico das áreas experimentais. No sistema de plantio direto consolidado, foram utilizadas doses de 0, 12,5, 25, 50 e 62,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅, equivalentes a 0%, 25%, 50%, 100% e 125% da dose recomendada (70 kg ha⁻¹), aplicadas via solo com o fertilizante Super Triplo (46% de P₂O₅). Já no sistema de plantio direto recém-implantado, as doses foram de 0, 25, 50, 100 e 125 kg ha⁻¹, correspondendo também a 0%, 25%, 50%, 100% e 125% da recomendação.

A área experimental foi conduzida em sistema de sucessão de culturas envolvendo soja, milho e sorgo. Em 2021, na segunda safra, foi cultivado o sorgo granífero da cultivar Brevante, seguido pela soja na safra 2021/2022, com a cultivar N5909 RR. Na segunda safra de 2022, foi implantado o híbrido de milho P3551PWU (Pioneer ®), semeado mecanicamente com espaçamento de 0,45 m entre linhas e densidade de 3,5 sementes por metro. Na segunda safra de 2023, utilizou-se o híbrido de milho FS615PWU (Forseed®), mantendo-se as mesmas condições de semeadura.

A adubação nitrogenada foi realizada no estágio V6 da cultura do milho, com aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N, utilizando ureia (45% de N) como fonte. A adubação potássica também foi feita no estágio V6, com 120 kg ha⁻¹ de K₂O, aplicados na

forma de cloreto de potássio (KCl, 60% de K_2O). Ambos os fertilizantes foram distribuídos manualmente na superfície do solo nas parcelas experimentais.

Na maturação fisiológica do milho, as espigas foram colhidas manualmente na parcela útil (2 m^2) nas duas safras, seguidas pela debulha mecânica com uso de debulhadora estacionária. Após a debulha, foram determinadas a massa de mil grãos (g) e a produtividade de grãos (kg ha^{-1}), corrigida para 13% de umidade. Também foram coletadas amostras de grãos para análise do teor de fósforo (P).

As amostras de solo foram coletadas no estágio de florescimento do milho, durante a segunda safra de inverno de 2024. Em cada parcela, foram retiradas quatro amostras simples, formando uma amostra composta. A análise de fósforo disponível foi realizada pelo método da resina, no Laboratório Brasileiro de Análises Ambientais e Agrícolas (LABRAS).

4.2 DESCRIÇÃO DA ÁREA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL NO TOCANTINS

O experimento foi instalado nas safras 2020/2021, e 2021/2022 na fazenda Invernadinha do Tocantins localizada em Paraíso do Tocantins, com coordenadas geográficas $10^{\circ}11'16''$ de latitude sul e $48^{\circ}40'57''$ de longitude oeste. O clima da região é definido como tropical semiúmido, com estação seca e chuvosa bem definida, com temperatura média anual de 25°C . O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico petroplântico Sistema Brasileiro de Classificação do Solo (SANTOS et al., 2018). Foi avaliada a aplicação do BiomaPhos® em combinação com diferentes doses de fósforo no cultivo de milho, em duas safras.

Tabela 2. Análise de amostras de solo coletadas na área experimental de Latossolo vermelho amarelo na profundidade de 0-20 cm, na fazenda Invernadinha do Tocantins em Paraíso do Tocantins, TO.

Profundidade	$\text{mmol}_c\text{ dm}^{-3}$							g kg^{-1}			
0-20 cm	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	V%	M.O.	Areia	Silte	Argila
	0,64	32	17	15	0	64	77	18	669	75	256
	mg dm^{-3}							CaCl_2			
	S	P	B	Cu	Fe	Mn	Zn	pH			
	5	33	0,02	0,3	17	0,5	0,1	6			

K mmol_c dm⁻³: potássio por milimol por decímetro cúbico; Ca mmol_c dm⁻³: cálcio por milimol por decímetro cúbico; Mg mmol_c dm⁻³: magnésio por milimol por decímetro cúbico; H+Al mmol_c dm⁻³: relação entre hidrogênio e alumínio por milimol por decímetro cúbico; Al mmol_c dm⁻³: alumínio por milimol por decímetro cúbico; CTC mmol_c dm⁻³: capacidade de troca de cátions por milimol de carga por decímetro cúbico; V%: percentagem de saturação por bases; MO dag x10g kg⁻¹: matéria orgânica por decagrama por quilo; Areia g kg⁻¹: areia por grama por quilograma; Silte g kg⁻¹: silte por grama por quilograma; Argila g kg⁻¹: argila por grama por quilograma; S mg dm⁻³: enxofre por micrograma por decímetro cúbico; P meh.⁻¹ mg dm⁻³: solução extratora Mehlich por micrograma por decímetro cúbico; B mg dm⁻³: boro por micrograma por decímetro cúbico; Cu mg dm⁻³: cobre por micrograma por decímetro cúbico; Fe mg dm⁻³: ferro por micrograma por decímetro cúbico; Mn mg dm⁻³: manganês por micrograma por decímetro cúbico; Zn mg dm⁻³: zinco por micrograma por decímetro cúbico; pH (CaCl₂): pH cloreto de cálcio.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, em parcelas de 32,4 m². Os tratamentos foram organizados em esquema fatorial 5 × 2, sendo o primeiro fator composto por cinco doses de P₂O₅ (0; 35; 52,5; 70 e 87,5 kg ha⁻¹), correspondendo a 0%, 50%, 75%, 100% e 125% da dose recomendada (70 kg ha⁻¹), aplicadas via solo com o fertilizante Super Triplo (46% de P₂O₅). O segundo fator consistiu na presença ou ausência do bioinoculante BiomaPhos (100 mL ha⁻¹), aplicado via tratamento de sementes.

O híbrido de milho P3707VYH foi plantado com densidade de 60.000 plantas ha⁻¹ e a adubação de plantio foi composta por 30 kg ha⁻¹ de N, 60 kg ha⁻¹ de K₂O e as doses de P₂O₅ conforme os tratamentos. Além disso, foi realizada adubação de cobertura com 60 kg ha⁻¹ de N no estágio de quatro folhas expandidas.

Durante o florescimento do milho, foram coletadas folhas diagnósticas e parte aérea das plantas para análise química de macronutrientes. As folhas para diagnose foliar foram retiradas da folha oposta e imediatamente abaixo da espiga superior, enquanto a parte aérea foi coletada pela remoção completa da planta acima do nível do solo.

Após a colheita, foi determinada a produtividade de grãos por hectare, com os valores corrigidos para 13% de umidade. Amostras de grãos foram coletadas para análise de macronutrientes (N, P e K) que foram analisadas foi realizada pelo método da resina, no Laboratório Brasileiro de Análises Ambientais e Agrícolas (LABRAS).

4.3 AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS DA ARQUITETURA DO SISTEMA RADICULAR (ASR)

Durante o período de florescimento, o sistema radicular de três plantas de

milho para cada uma das três repetições de cada tratamento foi coletado ao acaso nas fileiras mais externas do experimento em campo, conforme descrito pela metodologia *Shovelomics* (Trachsel *et al.* 2011). As raízes foram lavadas e a parte mais robusta dos sistemas radiculares foi fotografada (Bucksch *et al.* 2014), as imagens obtidas foram introduzidas na plataforma online *Digital Imaging of Root Traits* (DIRT) 5.2 (Das *et al.* 2015) com modificações (Campolino *et al.*, 2022) para quantificar diversas características da arquitetura radicular (Tabela 2).

Tabela 3. Características da arquitetura do sistema radicular (ASR) conforme Bucksch *et al.* 2014.

Característica ASR	Sigla
Área de raiz projetada	AREA
Densidade média da raiz	AVG_DENSITY
Largura média do sistema radicular	WIDTH_MED
Largura acumulada em 10% profundidade	D10
Profundidade de enraizamento do esqueleto	SKL_DEPTH
Ângulo superior da raiz	ANG_TOP
Diâmetro médio das raízes laterais	LT_AVG_DIA

4.4 EXTRAÇÃO DE DNA DO SOLO E AMPLIFICAÇÃO DO GENE 16S rRNA DA COMUNIDADE BACTERIANA E 28S rRNA DE FUNGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR (FMA)

O solo rizosférico, coletado de três raízes de plantas de milho para cada uma das três repetições de cada um dos tratamentos, e não rizosférico foram pesados (0,45 g), sendo o DNA extraído com o Kit DNAeasy® PowerSoil (Qiagen) e quantificado no espectrofotômetro Nanodrop® (Thermo Fisher Scientific, EUA) e diluído para concentração de 5,0 ng μL^{-1} .

Fragmentos do gene 16S rRNA foram amplificados utilizando os oligonucleotídeos 8F-FAM 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' (Liu *et al.* 1997; LaMontagne *et al.* 2001) marcados com fluorescência na posição 5' e 1492R, 5'-TACGGTACCTTGTTACGACTT-3' (Turner *et al.* 1999). Para a reação de PCR foram utilizados 15 ng de DNA, 2 μL de cada oligonucleotídeo (5 ng/ μL), 1X do tampão de reação, 2,5 mM de MgCl_2 , dNTPs 2,5 mM cada, 2,5 U de Taq DNA polimerase (Promega GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase), em um volume final de

50 µL. A amplificação foi realizada no termociclador ProFlex PCR System (Applied Biosystems) com desnaturação inicial a 95 °C por 2 min, seguida por 30 ciclos de 95 °C por 1 minuto, anelamento dos oligonucleotídeos a 58 °C por 1 minuto, extensão a 72 °C por 1 minuto e extensão final a 72 °C por 5 minutos. Uma alíquota de 2 µL dos produtos de PCR foi corada com GelRed (Biotium, Hayward, Califórnia, USA) e submetida a eletroforese em gel de agarose 1% (m/v), utilizando como marcador de peso molecular 1Kb Plus DNA Ladder (Life Technologies, USA). A visualização do DNA amplificado foi realizada em transluminador sob luz ultravioleta e fotografada no equipamento L-PIX Image EX (Loccus Biotecnologia - Loccus do Brasil, Cotia, SP, Brasil) (Campolino *et al.* 2022).

Para a amplificação do gene 28S rRNA de FMA foi utilizado nested-PCR. Para a primeira PCR foram utilizados 15 ng de DNA, 2 µL de LR1 (5 ng µL⁻¹) (5'-GCA TAT CAA TAA GCG GAG GA-3') (Van Tuinen *et al.* 1998; Trouvelot *et al.* 1999), 2 µL de FLR2 (5 ng µL⁻¹) (5'-GTC GTT TAA AGC CAT TAC GTC-3') (Trouvelot *et al.* 1999), 1X do tampão de reação, 2,5 mM de MgCl₂, dNTPs 2,5 mM cada, 2,5 U de Taq DNA polimerase (Promega GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase), em um volume final de 50 µL. A amplificação será realizada no termociclador ProFlex PCR System (Applied Biosystems) com desnaturação inicial a 95 °C por 2 min, seguida por 30 ciclos de 95 °C por 1 minuto, anelamento dos oligonucleotídeos a 58 °C por 1 minuto, extensão a 72 °C por 1 minuto e extensão final a 72 °C por 5 minutos. Para a segunda PCR foram utilizados 15 ng do produto da primeira PCR, 2 µL de FLR3 (5 ng µL⁻¹) (5'-[6FAM] TTGAAAGGGAAACGATT-3') (Gollotte *et al.* 2004), 2 µL de FLR4 (5 ng µL⁻¹) (5'-[HEX]TACGTCAACATCCTTAACGAA-3') (Gollotte *et al.* 2004), 1X do tampão de reação, 2,5 mM de MgCl₂, dNTPs 2,5 mM cada, 2,5 U de Taq DNA polimerase (Promega GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase), em um volume final de 50 µL. A amplificação foi realizada no termociclador ProFlex PCR System (Applied Biosystems) nas mesmas condições da primeira reação. Uma alíquota de 2 µL dos produtos da PCR foi corada com GelRed (Biotium, Hayward, Califórnia, USA) e submetida a eletroforese em gel de agarose 1% (m/v), seguindo o mesmo procedimento posterior à amplificação do gene 16S rRNA. A visualização do DNA amplificado foi realizada em transluminador sob luz ultravioleta e fotografada no equipamento L-PIX Image EX (Loccus Biotecnologia - Loccus do Brasil, Cotia, SP, Brasil) (Campolino *et al.* 2022).

4.5 GENOTIPAGEM POR T-RFLP (*TERMINAL RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM*) E IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA

Os fragmentos amplificados das regiões 16S rDNA (bactérias) e 28S rDNA (fungos) foram digeridos com as enzimas de restrição *AluI*, *HaeIII* e *HhaI*. Para a digestão com as enzimas *AluI*, *HaeIII* e *HhaI* foram utilizados 10 µL do produto de PCR, 2 µL do tampão da enzima 10 X e 1 µL da enzima 10 U µL⁻¹, incubados a 37 °C por 4 horas. Para avaliar os fragmentos de DNA gerados, 2 µL da digestão foram adicionados a 9,8 µL de formamida deionizada (Applied Biosystems, EUA) e 0,2 µL de padrão ROX 500 (Applied Biosystems). Os perfis de digestão foram avaliados no equipamento Genetic Analyzer 3500XL (Applied Biosystems) com o software GeneMapper 5.0 (Applied Biosystems). Os picos com tamanho entre 30 e 500 pb e intensidades de fluorescência superiores a 40 unidades de fluorescência (altura do pico) foram considerados para a análise do perfil. O programa T-REX (Culman *et al.* 2009) foi aplicado para o alinhamento de diferentes amostras e perfis de consenso de duas execuções paralelas de cada amostra, para criar dados, matrizes T-RFs com abundância relativa $\geq 1\%$ (área de pico individual dividida pela soma de todas as áreas de pico) foram aplicadas (Fredriksson *et al.* 2014). As abundâncias relativas das espécies microbianas aplicadas foram determinadas pelos valores médios de tamanho de T-RF de digestões com as enzimas de restrição.

A identificação taxonômica para bactérias foi feita por meio dos fragmentos obtidos pela análise de T-RFLP, foi realizada a partir da ferramenta online Microbial Community Analysis – MiCA III (<http://mica.ibest.uidaho.edu/pat.php>). A classificação taxonômica foi realizada no National Center for Biotechnology Information (NCBI) usando a ferramenta online Taxonomy disponível em http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/TaxIdentifier/tax_identifier.cgi (Campolino *et al.* 2022).

Além disso, três índices de diversidade, Shannon-Wiener - H' (Shannon & Weaver 1963), Simpson - D (Simpson 1949) e Chao (Chao & Bunge 2002), foram calculados com base nas famílias bacterianas identificadas em cada tratamento.

4.6 AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR

As raízes de milho foram clarificadas em hidróxido de potássio (KOH), coradas com azul de metileno e transferidas para tubos cônicos contendo solução de glicerol acidificada (1:1 glicerol e HCl 0,3 M). A colonização micorrízica foi quantificada seguindo o método *grid-line intersect* descrito por Paszkowski *et al.* (2006), com modificações.

4.7 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DAS FOSFATASES ÁCIDA E ALCALINA

A atividade das fosfatases ácida e alcalina do solo rizosférico foi avaliada em todos os tratamentos. Para isso, o solo foi peneirado com uma malha de 2 mm e, em seguida, foram removidos, com auxílio de pinças, fragmentos de raízes, tecidos vegetais e outros materiais orgânicos grosseiros que pudessem interferir na análise. Em seguida, 1 g de solo rizosférico de cada tratamento foi pesado, e a atividade enzimática foi determinada conforme descrito por Tabatabai (1969). O método consiste na extração e quantificação do p-nitrofenol liberado após a incubação do solo por uma hora a 37 °C com p-nitrofenil fosfato ou bis-p-nitrofenil fosfato, utilizando tampão universal modificado, ajustado para pH 6,5 e 11, para as fosfatases ácida e alcalina, respectivamente.

4.8 ANÁLISE DE DADOS

A produtividade, os teores de fósforo nos grãos e no solo foram avaliados por meio de testes para verificar os pressupostos de normalidade e homogeneidade. O efeito da inoculação e das doses de adubação nos tratamentos foi analisado por meio de análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, ambos com nível de significância de 5% de probabilidade.

A diversidade genética de bactérias e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) foi analisada utilizando o escalonamento multidimensional não métrico (NMDS), baseado na matriz de distância de Bray-Curtis, e o teste ANOSIM a 10% de probabilidade, por meio do software Past v.3.25. A abundância relativa dos

táxons bacterianos foi avaliada por ANOVA, seguida do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Além disso, os índices de diversidade Shannon-Wiener - H' (Shannon & Weaver, 1963), Simpson - D (Simpson, 1949) e Chao (Chao & Bunge, 2002) foram testados por ANOVA e pelo teste de Tukey, também a 5% de probabilidade.

A atividade enzimática das fosfatases foi avaliada por ANOVA, e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a análise qualitativa e quantitativa da colonização micorrízica arbuscular, os percentuais de micorrização foram normalizados utilizando transformação arco-seno e submetidos a ANOVA, seguida do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As características radiculares foram analisadas por ANOVA, seguida do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foram selecionadas as características com coeficiente de variação menor ou igual a 30%. A correlação de Pearson foi realizada para avaliar a relação entre características radiculares, rendimento de grãos e índices de diversidade. Com base na análise de correlação foram selecionadas para a Análise de Componentes Principais (PCA) as características de ASR: Ângulo superior da raiz (ANG_TOP), Área de raiz projetada (AREA), Densidade média da raiz (AVG_DENSITY), Largura acumulada em 10% da profundidade (D10), Diâmetro médio das raízes laterais (LT_AVG_DIA), Profundidade do enraizamento do esqueleto (SKL_DEPTH) e Largura média do sistema radicular (WIDTH_MED).

Todas as análises foram realizadas no software R, versão 4 (R Core Team, 2024) foram utilizados os pacotes ExpDes.pt e agricolae para as análises estatísticas. Para gerar os gráficos de correlação de Pearson foram utilizados os pacotes corrplot e rstatix, para os gráficos de abundância relativa foi utilizado pacote ggplot2, já para a análise de componentes principais (PCA) foi utilizado o pacote factoextra.

5.1 RESULTADOS

5.1.1 DADOS AGRONÔMICOS – MILHO INOCULADO COM BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EM DIFERENTES TIPOS DE MANEJO DA ADUBAÇÃO FOSFATADA EM ÁREAS DE SISTEMA DE PLANTIO DIRETO (SPD) CONSOLIDADA E NÃO CONSOLIDADA NO MATO GROSSO DO SUL

A produtividade (kg ha^{-1}) apresentou diferença significativa em ambos os anos considerando os dois sistemas de plantio. No entanto, a interação entre SPD, inoculação e adubação foi estatisticamente significativa apenas no segundo ano (Tabela 4). Foi observada maior produtividade (kg ha^{-1}) na área com SPD consolidado com aumento de 15% no primeiro ano e 18% no segundo em relação a área de SPD não consolidada (Tabela 5). Para diferença na interação entre SPD, inoculação e adubação fosfatada observada no segundo ano, os maiores valores da produtividade (kg ha^{-1}) foram observados no tratamento em SPD não consolidado sem inoculação com 50% da dose de adubação (Tabela 5).

Para a análise de P resina (mg dm^{-3}) foi observado diferença significativa entre áreas de SPD consolidado e SPD não consolidado nos dois anos, já a associação dos efeitos das áreas e da adubação foram significativas no segundo ano (Tabela 4). Foi observada maior P resina (mg dm^{-3}) na área com SPD consolidado com aumento de 50% no primeiro ano e 37% no segundo em relação a área de SPD não consolidado (Tabela 5). De forma geral foram observados maiores valores para o P resina (mg dm^{-3}) no primeiro ano.

Tabela 4. Análise de variância (ANOVA) da produtividade (kg ha^{-1}) e P resina (mg dm^{-3}) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha^{-1}) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Fonte de variação	Quadrado Médio	
		Produtividade (kg ha^{-1})	P resina (mg dm^{-3})
2021/2022	Bloco	1166737,78	99,6
	Solo	8325917,88 *	5439,06 *
	Inoculação	2919,6	226,5
	Adubação	1667639,71	7,41
	Solo*Inoculação	534068,64	117
	Solo*Adubação	482817,02	272,44
	Inoculação*Adubação	310171,07	94,84
	Solo*inoculação*Adubação	852442,36	146,04
	Coeficiente de Variação (%)	20.72	46.7
2022/2023	Bloco	2667513,22	86,58
	Solo	11194600,69 *	1794,93 *
	Inoculação	2980572,05	134,56
	Adubação	1596297	170,9
	Solo*Inoculação	6136684,98	74,53
	Solo*Adubação	564400,98	1234,31 *
	Inoculação*Adubação	480850,57	169,89
	Solo*inoculação*Adubação	7251204,85 *	298,02
	Coeficiente de Variação (%)	18.71	27.99

Tabela 5. Valores da produtividade (kg ha^{-1}) e P resina (mg dm^{-3}) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha^{-1}) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Tratamento	Produtividade (kg ha^{-1})	P resina (mg dm^{-3})
2021/2022	SPDC	7084,00 a	72,98 a
	SPDNC	6122,18 b	48,40 b
	Inoculado	6594,08 a	58,18 a
	Não Inoculado	6612,10 a	63,20 a
	0%	6268,00 a	61,24 a
	50%	7004,64 a	59,79 a
	100%	6536,63 a	61,04 a
2022/2023	SPDC	7064,76 a	52,00 a
	SPDNC	5949,48 b	37,88 b
	Inoculado	6219,38 a	43,01 a
	Não Inoculado	6794,86 a	46,87 a
	0%	6086,90 a	49,28 a
	50%	6741,35 a	43,12 a
	100%	6693,13 a	42,42 a

5.1.2 ANÁLISE DA ARQUITETURA DO SISTEMA RADICULAR

No primeiro ano observamos que as áreas de SPD consolidado e SPD não consolidado tiveram diferença significativa, observamos impacto positiva da área de SPD consolidado nas características AREA, WIDTH_MED, D10, SKI_DEPTH, ANG_TOP e LT_AVG_DIA, e somente a característica AVG_DENSITY não foi impactada pelos sistemas de plantio. Também observamos efeito significativo da adubação no D10 e também no ANG_TOP. A característica D10 obteve diferença significativa para a associação do efeito triplo dos fatores (Tabela 6).

Na área de SPD consolidado foi observado um aumento médio de 40% na AREA, já para ANG_TOP e WIDTH_MED ocorreu um aumento de 24,6% e 24,3% respectivamente, seguido de SKL_DEPTH com aumento aproximado de 13%, LT_AVG_DIA teve o menor aumento com 4,5%. A característica D10 teve os maiores valores médios na região de SPD não consolidada, também observamos os maiores valores de D10 para dose de Adubação de 50%, já para ANG_TOP os maiores valores foram observados na dosagem 100% da adubação (Tabela 7) (Figura 1).

Já no segundo ano observamos que as áreas de SPD consolidado e SPD não consolidado novamente tiveram diferença significativa, com impacto positivo nas características D10, SKI_DEPTH, ANG_TOP e LT_AVG_DIA, também observamos diferença significativo do efeito simples da adubação e inoculação na característica LT_AVG_DIA, o efeito triplo dos fatores teve diferença para a característica AVG_DENSITY e LT_AVG_DIA. A característica LT_AVG_DIA também teve diferença para os efeitos associados da inoculação com as áreas de SPD, adubação com as áreas de SPD e também para o efeito associado da inoculação com a adubação (Tabela 6).

Na região de SPD consolidado foi observado um aumento médio de 40% no ANG_TOP em relação a área de SPD não consolidado, para D10 e SKL_DEPTH ocorreu um aumento 21,7% e 19,2% respectivamente, LT_AVG_DIA teve o menor aumento com 7%. As plantas inoculadas apresentaram aumento de 3% para

característica LT_AVG_DIA, já para adubação as dosagens de 50 e 100% apresentaram os maiores valores médios para LT_AVG_DIA (Tabela 7) (Figura 2).

Tabela 6. Análise de variância (ANOVA) das características radiculares de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Quadrado Médio								
Ano	Fonte de variação	AREA	AVG_DENSITY	WIDTH_MED	D10	SKL_DEPTH	ANG_TOP	LT_AVG_DIA
2021/2022	Bloco	3507047,05	0,13	18,49	0,005 *	421,80	206,97	0,00
	Solo	360297396,34 *	0,02	7920,00 *	0,010 *	11252,96 *	1223,73 *	0,004 *
	Inoculação	7280297,73	0,13	2439,43	0,00	111,70	0,76	0,00
	Adubação	5550670,61	0,04	1617,50	0,006 *	399,25	565,65 *	0,00
	Solo*Inoculação	7107,03	0,12	236,55	0,00	50,92	4,77	0,00
	Solo*Adubação	12254493,24	0,26	940,40	0,00	289,64	206,49	0,00
	Inoculação*Adubação	1283626,17	0,19	1136,43	0,00	402,08	127,37	0,00
	Solo*inoculação*Adubação	7884789,84	0,28	304,86	0,01	720,78	297,72 *	0,00
Coeficiente de Variação (%)		22,52	26,5	21,67	16,63	8,36	17,77	3,78
Quadrado Médio								
Ano	Fonte de variação	AREA	AVG_DENSITY	WIDTH_MED	D10	SKL_DEPTH	ANG_TOP	LT_AVG_DIA
2022/2023	Bloco	4517168,95	0,21	112,67	0,00	1928,62 *	250,69	0,00
	Solo	533507,14	0,20	480,19	0,02 *	6332,16 *	2564,16 *	0,004 *
	Inoculação	5740264,53	0,10	960,60	0,02	1070,70	844,98	0,0005 *
	Adubação	4818366,97	0,35	34,36	0,02	1113,27	519,79	0,002 *
	Solo*Inoculação	1425057,60	0,01	685,39	0,00	1374,24	17,43	0,001 *
	Solo*Adubação	457513,69	0,44	1035,63	0,01	1834,56 *	1011,22	0,0003 *
	Inoculação*Adubação	136957,95	0,41	39,96	0,00	1359,57	96,00	0,001 *
	Solo*inoculação*Adubação	1130634,34	0,55 *	201,31	0,00	118,03	49,15	0,0005 *
Coeficiente de Variação (%)		25,54	28,88	25,27	28,37	15,16	37,61	4,18

AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais.

Tabela 7. Características radiculares de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Tratamento	AREA	AVG_DENSITY	WIDTH_MED	D10	SKL_DEPTH	ANG_TOP	LT_AVG_DIA
2021/2022	SPDC	21366,68 a	1,64 a	151,57 a	0,23 b	299,47 a	58,97 a	0,46 a
	SPDNC	15039,52 b	1,69 a	121,90 b	0,26 a	264,11 b	47,31 b	0,44 b
	Inoculado	18652,8 a	1,72 a	144,97 a	0,25 a	280,03 a	53,28 a	0,45 a
	Não inoculado	17753,4 a	1,61 a	128,51 a	0,24 a	283,55 a	52,99 a	0,45 a
	0%	17977,92 a	1,72 a	142,34 a	0,24 ab	280,66 a	53,41 ab	0,45 a
	50%	17664,13 a	1,66 a	123,39 a	0,27 a	288,04 a	46,14 b	0,44 a
	100%	18967,25 a	1,61 a	144,48 a	0,22 b	276,68 a	59,86 a	0,45 a
Ano	Tratamento	AREA	AVG_DENSITY	WIDTH_MED	D10	SKL_DEPTH	ANG_TOP	LT_AVG_DIA
2022/2023	SPDC	5215,25 a	1,25 a	78,30 a	0,28 a	164,51 a	59,06 a	0,28 a
	SPDNC	4971,78 a	1,40 a	85,61 a	0,23 b	137,98 b	42,18 b	0,26 b
	Inoculado	5492,83 a	1,38 a	87,12 a	0,28 a	156,70 a	45,78 a	0,27 a
	Não inoculado	4694,20 a	1,28 a	76,79 a	0,23 a	145,79 a	55,46 a	0,26 b
	0%	4405,58 a	1,19 a	83,89 a	0,23 a	140,52 a	56,26 a	0,25 b
	50%	5221,62 a	1,28 a	81,23 a	0,24 a	154,07 a	52,21 a	0,28 a
	100%	5653,33 a	1,52 a	80,74 a	0,29 a	159,15 a	43,39 a	0,28 a

AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais.



Figura 1. Raízes de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolida (SPDNC) nas safras 2021/2022. **A:** Dose 0% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **B:** Dose 50% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **C:** Dose 100% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **D:** Dose 0% P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **E:** Dose 50 % P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **F:** Dose 100 kg P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **G:** Dose 0% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **H:** Dose 50% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **I:** Dose 100% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **J:** Dose 0% P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **K:** Dose 50 % P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **L:** Dose 100 kg P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante.



Figura 2. Raízes de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2022/2023. **A:** Dose 0% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **B:** Dose 50% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **C:** Dose 100% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **D:** Dose 0% P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **E:** Dose 50 % P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **F:** Dose 100 kg P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **G:** Dose 0% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **H:** Dose 50% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **I:** Dose 100% P₂O₅ ha⁻¹, sem bioinoculante. **J:** Dose 0% P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **K:** Dose 50 % P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante. **L:** Dose 100 kg P₂O₅ ha⁻¹, com bioinoculante.

5.1.3 DIVERSIDADE GENÉTICA E ABUNDÂNCIA RELATIVA DA COMUNIDADE BACTERIANA RIZOSFERICA

A diversidade genética entre as comunidades bacterianas rizosférica e não-rizosférica avaliada pelo escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) mostrou diferença significativa ($p = 0,006$) no primeiro ano, já no segundo ano não foi observada diferença significativa ($p = 0,89$). Foi observada diferença significativa entre a comunidade bacteriana nas áreas de SPD consolidada e SPD não consolidada, nos dois anos avaliados ($p = 0,004$ – 2021, $p = 0,001$ – 2022). Para as doses de adubação fosfatada não foi observada diferença significativa nos dois anos ($p = 0,83$: 2021, $p = 0,84$: 2022). A utilização do bioinoculante não teve impacto significativo na comunidade bacteriana nos dois anos ($p = 0,20$: 2021, $p = 0,11$: 2022) (Figura 3).

O efeito da associação do bioinoculante com a adubação foi significativo para a área de SPD não consolidada nos dois anos (ANOSIM Adubação $p = 0,0002$, ANOSIM Inoculação $p = 0,0002$: 2021, ANOSIM Adubação $p = 0,002$, ANOSIM Inoculação $p = 0,083$: 2022). Já para a área de SPD consolidada, somente no primeiro ano foi observada impacto significativo da associação do bioinoculante com adubação fosfatada (ANOSIM Adubação $p = 0,0008$, ANOSIM Inoculação $p = 0,045$), no segundo ano não foi observada diferença significativa para interação associação dos 2 fatores (ANOSIM Adubação $p = 0,170$, ANOSIM Inoculação $p = 0,120$) (Figura 4).

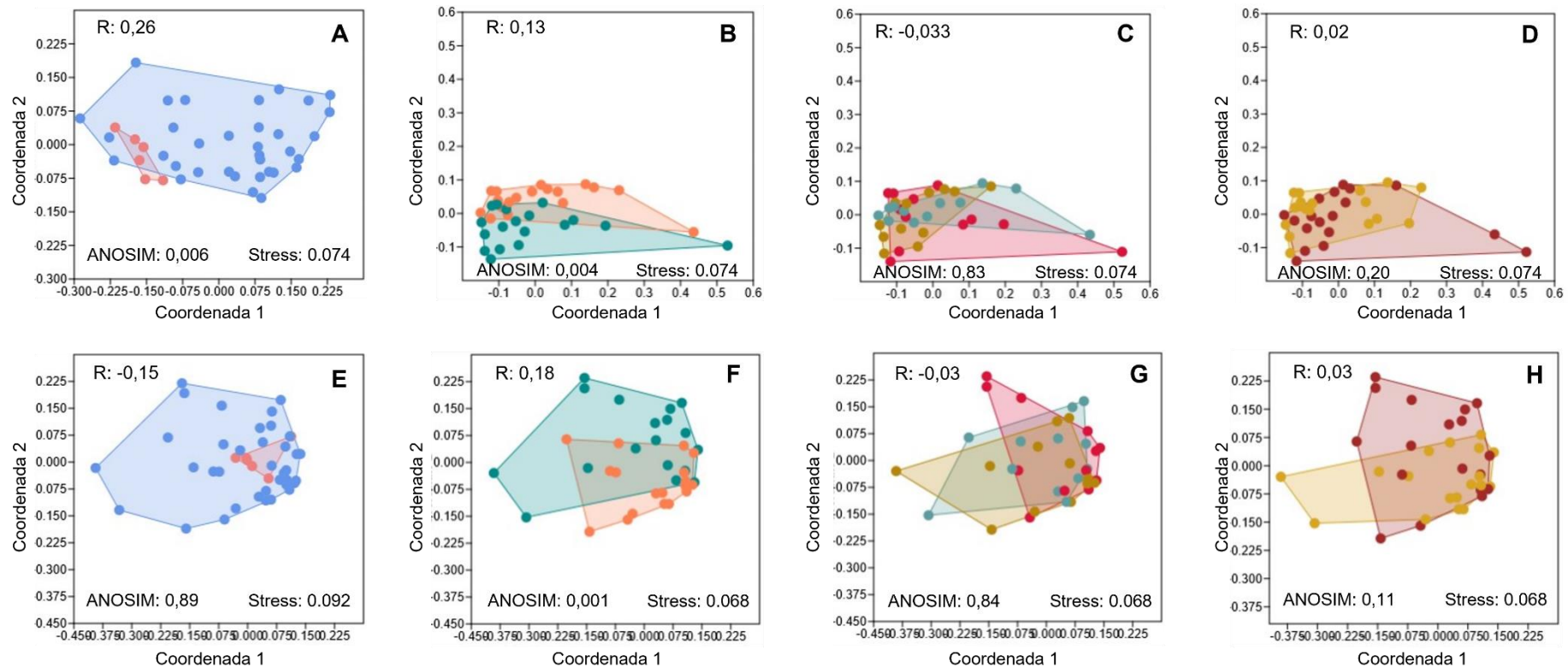


Figura 3. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética bacteriana do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. **A e E:** ● solo rizosférico, ● solo não-rizosférico, **B e F:** ● SDP consolidado, ● SPD não consolidado, **C e G:** ● 0% de P₂O₅, ● 50% de P₂O₅, ● 100% de P₂O₅, **D e H:** ● Presença da inoculação do produto a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato, ● Ausência da inoculação do produto a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato. **A, B, C, D** – Safra 2021, **E, F, G, H** – Safra 2022.

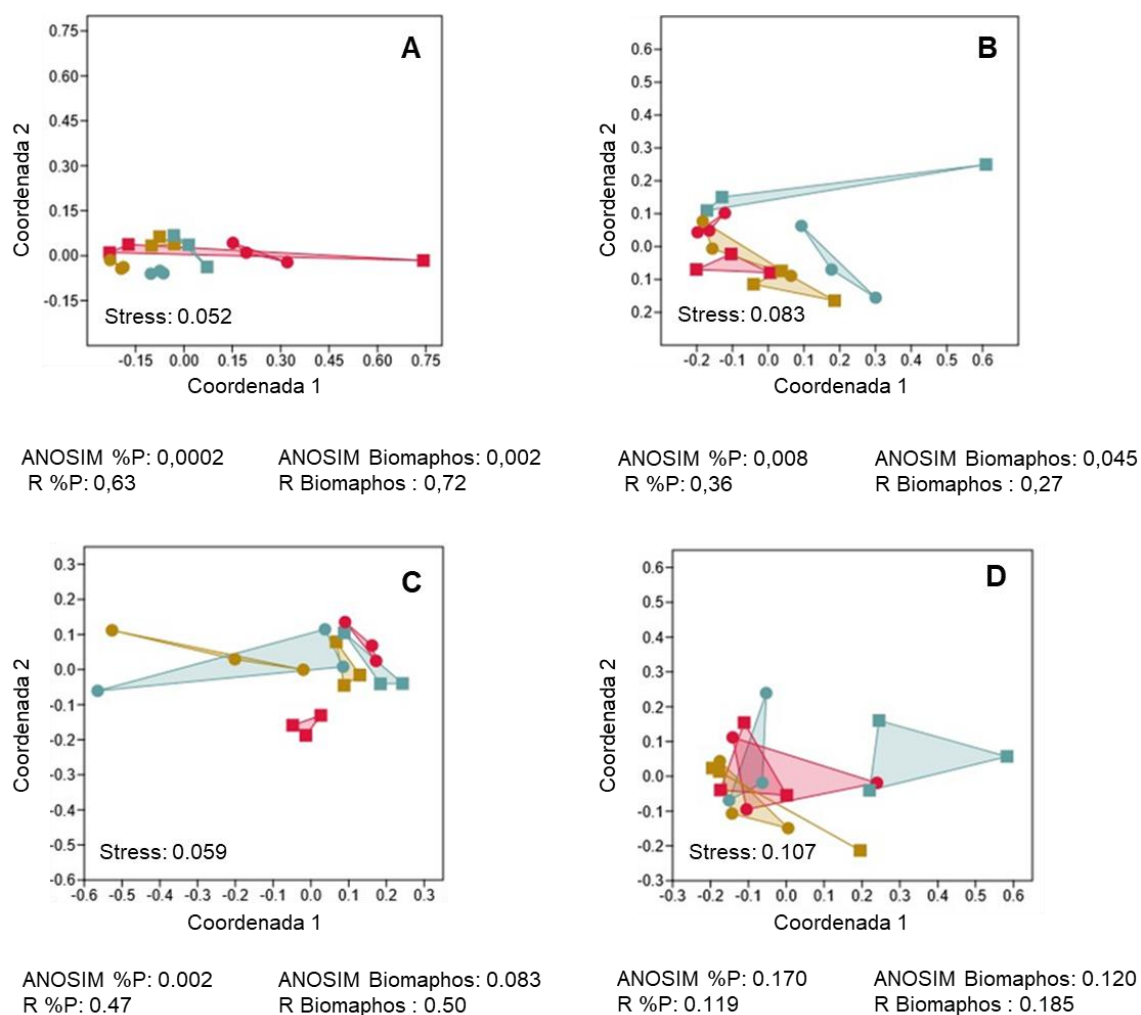


Figura 4. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética bacteriana do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. ● Presença da inoculação do produto a base de estirpes bacterinas solubilizadoras de fosfato, ■ Ausência da inoculação do produto a base de estirpes bacterinas solubilizadoras de fosfato e as dosagens ● 0% de P₂O₅, ● 50% de P₂O₅, ● 100% de P₂O₅. **A e C:** SPD não consolidado, **B e D:** SPD consolidado. **A e B** – Safra 2021, **C e D** – Safra 2022.

Para abundância relativa da comunidade bacteriana rizosférica observamos na identificação taxonômica bacteriana a presença de três filos predominantes nos dois anos em todos os tratamentos, *Actinomycetota*, *Bacillota*, *Pseudomonadota* e um grupo de indivíduos não classificados nomeado como *Others* (Figura 5).

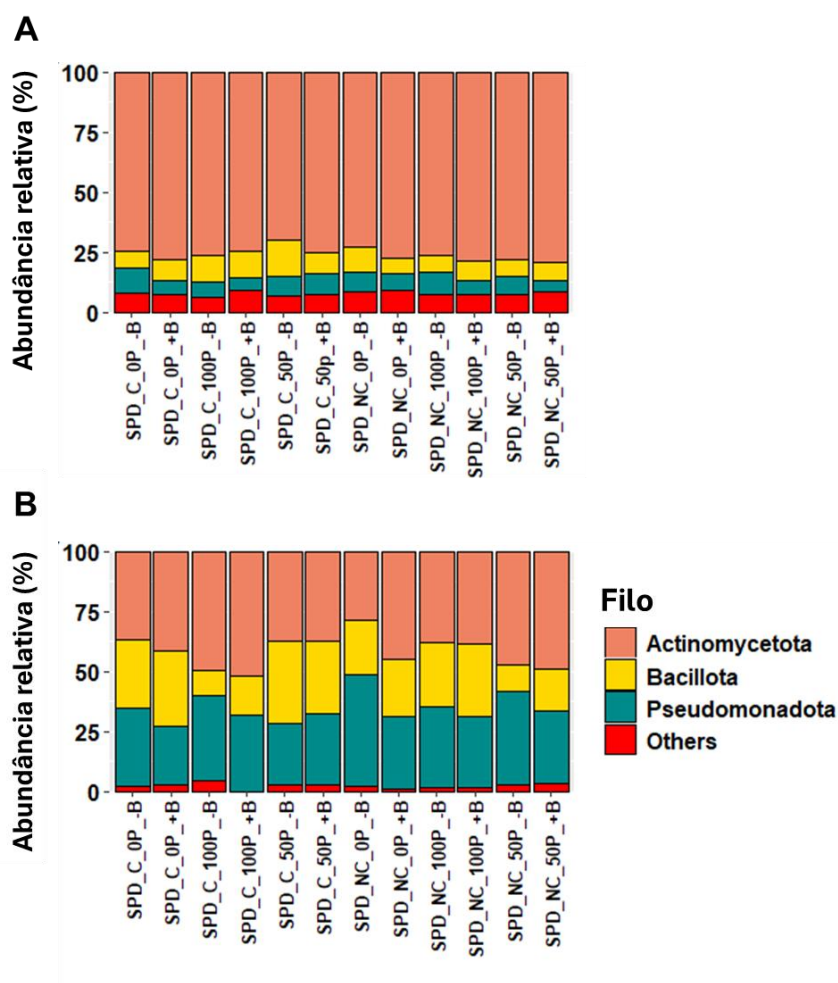


Figura 5. Abundância relativa dos filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. SPD_NC_0P_-B: SPD não consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPD_NC_50P_-B: SPD não consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPD_NC_100P_-B: SPD não consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPD_NC_0P_+B: SPD não consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPD_NC_50P_+B: SPD não consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPD_NC_100P_+B: SPD não consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPD_C_0P_-B: SPD consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPD_C_50P_-B: SPD consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPD_C_100P_-B: SPD consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPD_C_0P_+B: SPD consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPD_C_50P_+B: SPD consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com

Bioinoculante, SPD_C_100P_+B: SPD consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante. **A** – Safra 2021, **B** – Safra 2022.

Observamos que o bioinoculante teve impacto significativo na abundância relativa dos filos Actinomycetota e Pseudomonadota no primeiro ano. No segundo ano as áreas de SPD consolidado e não consolidado associadas as dosagens de adubação impactaram significativamente no filo Bacillota. Foi observado aumento de 5% na abundância relativa do Filo Actinomycetota nos tratamentos inoculados, já para Pseudomonadota observamos aumento de 47% na abundância relativa nos tratamentos não inoculados (Tabela 8).

Tabela 8. Abundância relativa (%) dos Filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Inoculação	Actinomycetota	Bacillota	Pseudomonadota	Others
2021/2022	SPDC	74,00 a	10,01 a	7,89 a	8,07 a
	SPDNC	76,66 a	7,80 a	7,13 a	8,39 a
	Inoculado	77,31 a	8,15 a	6,06 b	8,46 a
	Não Inoculado	73,36 b	9,66 a	8,96 a	8,00 a
	0%	74,90 a	8,17 a	8,11 a	8,80 a
	50%	75,71 a	9,72 a	6,68 a	7,86 a
	100%	75,39 a	8,82 a	7,74 a	8,03 a
2022/2023	SPDC	42,56 a	24,07 a	30,60 a	2,75 a
	SPDNC	36,72 a	24,10 a	37,29 a	1,86 a
	Inoculado	43,12 a	21,69 a	32,98 a	2,19 a
	Não Inoculado	36,16 a	26,49 a	34,91 a	2,42 a
	0%	36,83 a	23,66 a	37,57 a	1,92 ab
	50%	40,14 a	22,79 a	33,63 a	3,41 a
	100%	41,94 a	25,81 a	30,63 a	1,59 b

No primeiro ano, apenas a interação tripla dos fatores sistema de plantio, adubação e inoculação apresentou diferença significativa para o índice de diversidade Chao. Já no segundo ano, observamos impacto significativo do SPD para os índices de diversidade de Shannon-Wiener - H' e Simpson – D, enquanto a adubação fosfatada apresentou diferença significativa para os índices de Shannon-Wiener - H' e Chao, foram observados maior valores para diversidade nas

áreas de SPD consolidada, assim como maior diversidade para a dose de 50% da adubação fosfatada (Tabela 9).

Tabela 9. Índices de diversidade de Shannon, Simpson e Chao dos filamentos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Tratamento	Shannon	Simpson	Chao
2021/2022	SPDC	1,19 a	0,64 a	3,83 a
	SPDNC	1,16 a	0,63 a	3,83 a
	Inoculado	1,15 a	0,63 a	3,77 a
	não inoculado	1,20 a	0,65 a	3,88 a
	0%	1,16 a	0,63 a	3,75 a
	50%	1,16 a	0,63 a	3,83 a
	100%	1,20 a	0,65 a	3,91 a
2022/2023	SPDC	1,21 a	0,68 a	3,72 a
	SPDNC	1,06 b	0,61 b	3,33 a
	Inoculado	1,14 a	0,65 a	3,50 a
	não inoculado	1,13 a	0,64 a	3,55 a
	0%	1,14 ab	0,65 a	3,50ab
	50%	1,25 a	0,69 a	3,91 a
	100%	1,02 b	0,60 a	3,16 b

5.1.4 DIVERSIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO DE FMA

O escalonamento multidimensional não métrico (NMDS), para a diversidade genética da comunidade FMA mostrou diferença significativa na comparação entre as comunidades rizosférica e não-rizosférica no primeiro ano ($p = 0,0001$). No entanto, no segundo ano não observamos a mesma diferença significativa ($p = 0,69$). Para as áreas de SPD consolidada e SPD não consolidada, observamos impacto significativo na comunidade FMA ($p = 0,01$: 2021, $p = 0,0004$: 2022). Não observamos impacto significativo na comunidade FMA quando avaliamos entre as doses de adubação fosfatada ($p = 0,84$: 2021, $p = 0,59$: 2022), assim como não foi observada diferença significativa entre a comunidade FMA nos tratamentos inoculados e não inoculados com bioinoculante nos dois anos ($p = 0,22$: 2021, $p = 0,65$: 2022) (Figura 6).

Quando analisamos o efeito do bioinoculante associado a adubação na área de SPD não consolidada, observamos que no primeiro ano a adubação demonstrou

impacto significativo (ANOSIM Adubação $p = 0,08$, ANOSIM Inoculação $p = 0,11$), já para o segundo ano não foi observada diferença significativa para ambos fatores na diversidade genética da comunidade FMA (ANOSIM Adubação $p = 0,82$, ANOSIM Inoculação $p = 0,66$). Já para a área de SPD consolidada ao analisar o efeito do bioinoculante associado adubação fosfatada, somente o bioinoculante no primeiro ano teve impacto significativo na comunidade FMA (ANOSIM Adubação $p = 0,14$, ANOSIM Inoculação $p = 0,04$), no segundo ano nenhum dos dois fatores tiveram impacto significativo (ANOSIM Adubação $p = 0,76$, ANOSIM Inoculação $p = 0,44$) (Figura 7).

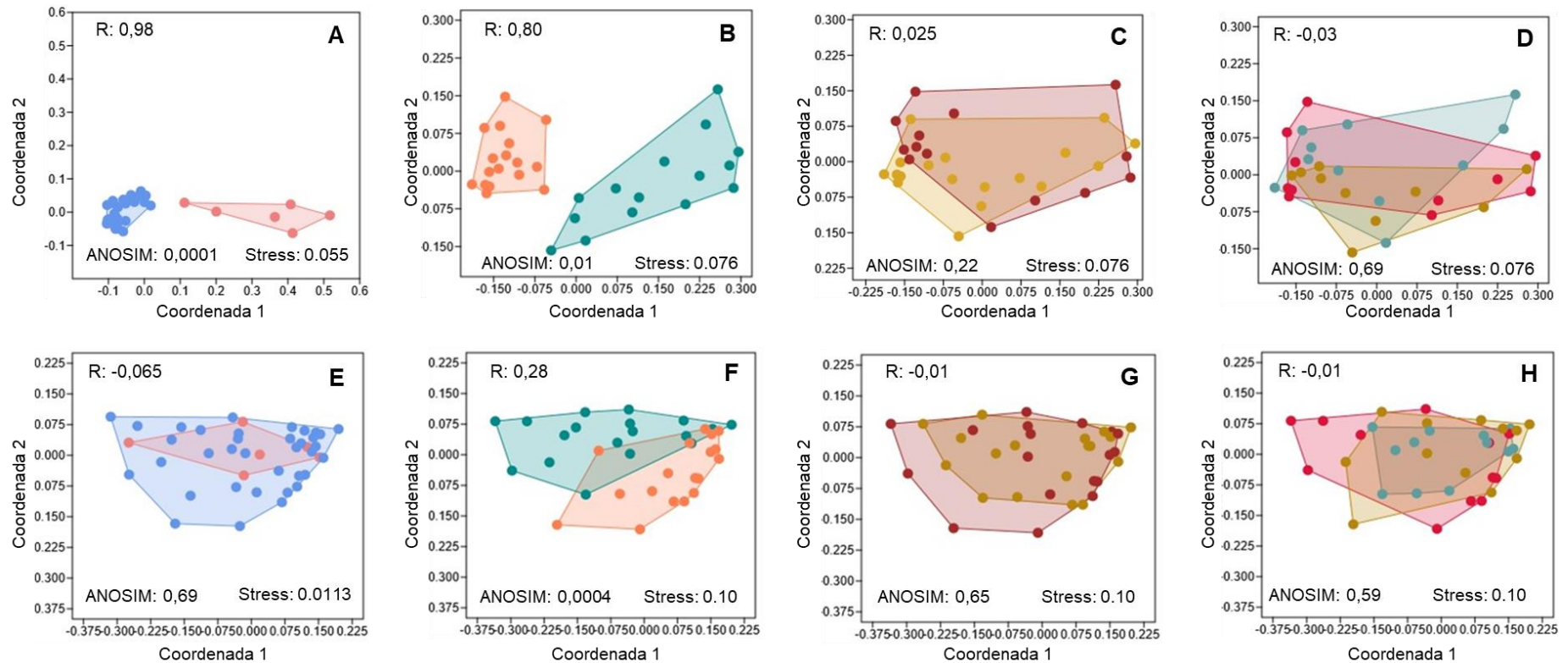


Figura 6. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética de FMA do solo de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. **A e E:** ● solo rizosférico, ● solo não-rizosférico, **B e F:** ● SDP consolidado, ● SPD não consolidado, **C e G:** ● Presença da inoculação do produto a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato, ● Ausência da inoculação do produto a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato. **D e H:** ● 0% de P₂O₅, ● 50% de P₂O₅, ● 100% de P₂O₅. **A, B, C, D** – Safra 2021, **E, F, G, H** – Safra 2022.

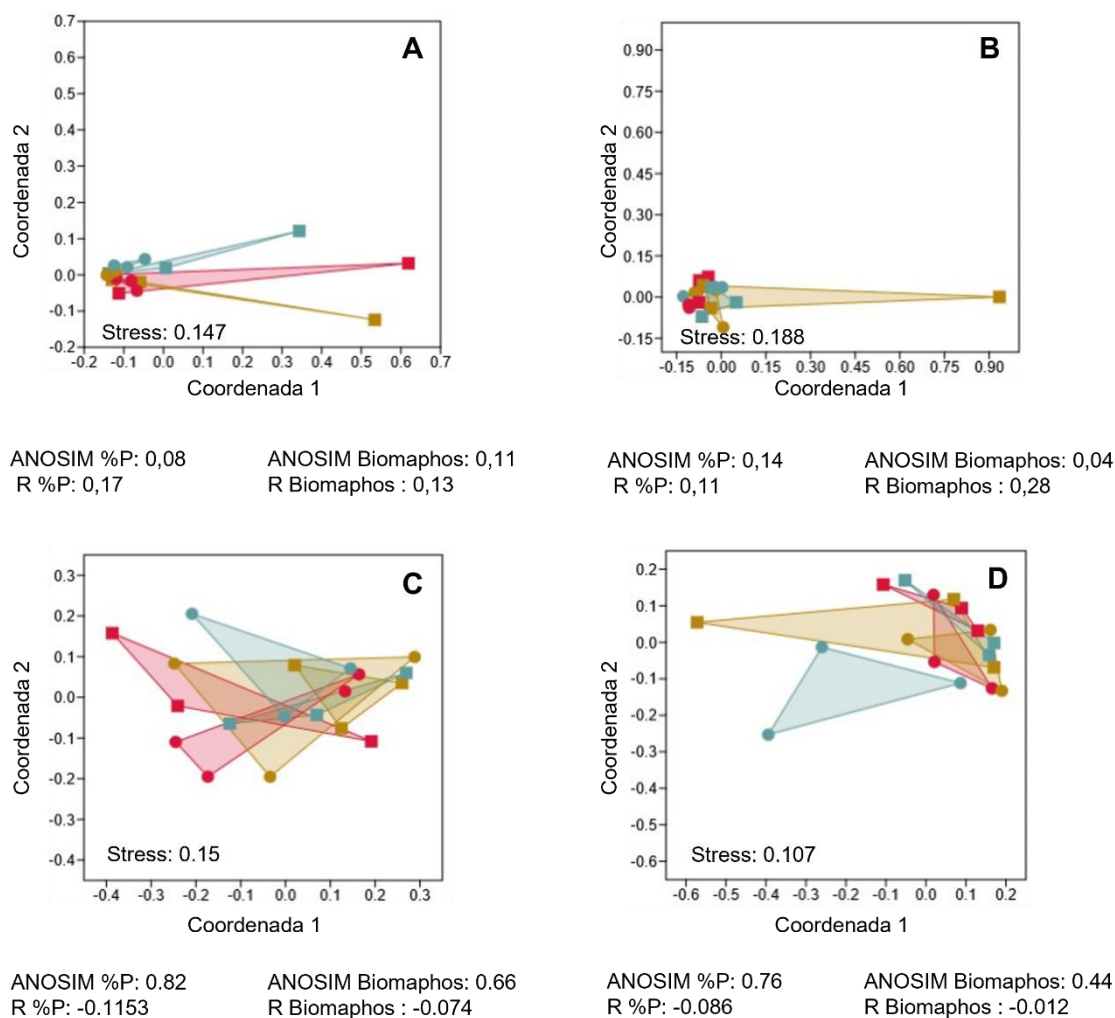


Figura 7. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética de FMA do solo de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. ● Presença da inoculação do produto a base de estirpes bacterinas solubilizadoras de fosfato, ■ Ausência da inoculação do produto a base de estirpes bacterinas solubilizadoras de fosfato e as dosagens ● 0% de P₂O₅, ● 50% de P₂O₅, ● 100% de P₂O₅. **A** e **C**: SPD não consolidado, **B** e **D**: SPD consolidado. **A** e **B** – Safra 2021, **B** e **C** – Safra 2022.

Na avaliação qualitativa e quantitativa da colonização micorrízica arbuscular observamos que as áreas de SPD consolidada e SPD não consolidada tiveram impacto significativo na colonização micorrízica arbuscular nos dois anos, observamos maior colonização na área de SPD não consolidado com aumento de 27% da colonização micorrízica no primeiro ano e 38% no segundo ano, em relação

ao SPD consolidado (Figura 8). também observamos impacto significativo da adubação no primeiro ano. Já no segundo ano observamos que o Bioinoculante teve impacto significativo, com aumento de 11% da colonização nos tratamentos não inoculados. Também observamos diferença significativa como a associação dos dois fatores áreas de SPD e inoculação no segundo ano.

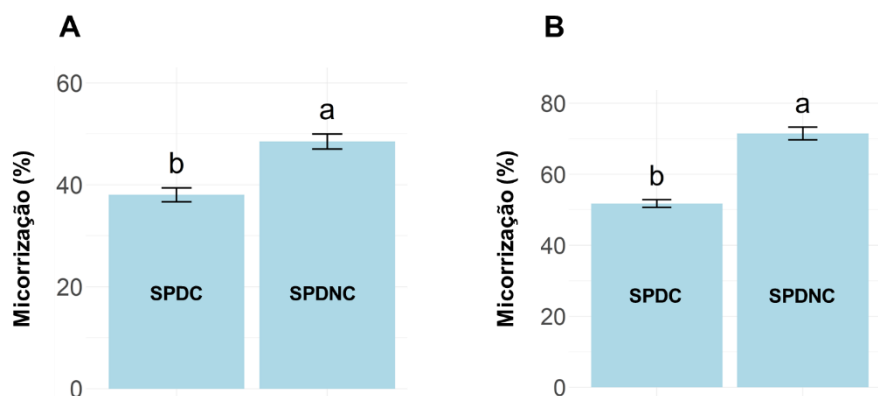


Figura 8. Colonização micorrízica (%) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. **A:** safra – 2021, **B:** safra – 2022.

5.1.5 ATIVIDADE DAS FOSFATASES ÁCIDA E ALCALINA

Foi observado que o bioinoculante impactou significativamente nas fosfatases ácida e alcalina nos dois anos, sendo observada maior atividade enzimática nas plantas sem inoculação, observamos um aumento de 11% na atividade enzimática da fosfatases ácida nos tratamentos sem inoculação no primeiro ano e 18% no segundo ano, já para fosfatase alcalina observamos aumento de 25% no primeiro ano e 22% no segundo ano (Figura 9).

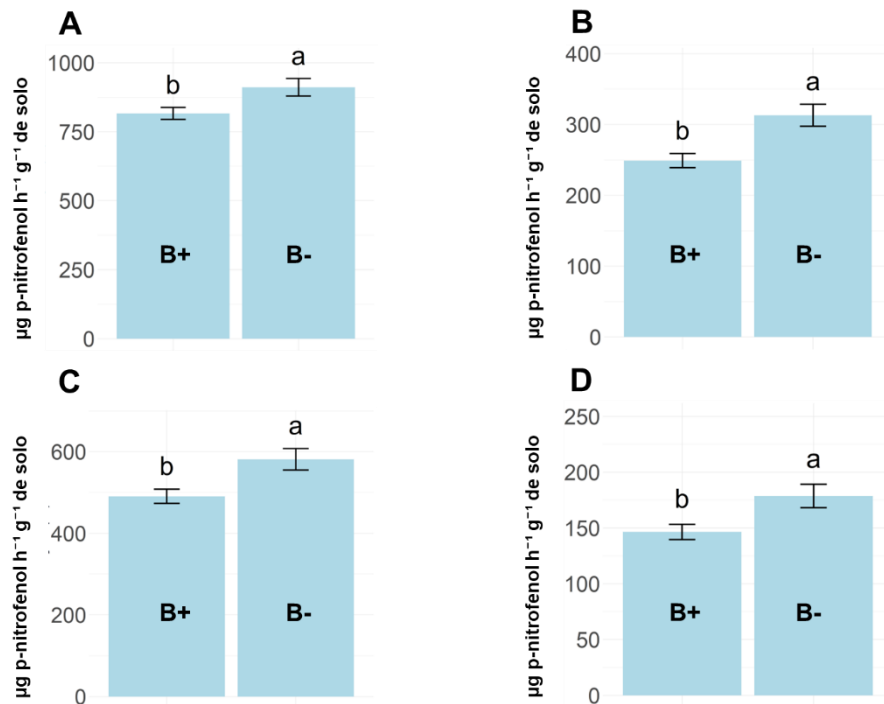


Figura 9. Atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina do solo rizosférico de milho inoculado (B+) e não inoculado (B-) cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. **A e C:** Fosfatase Ácida, **B e D:** Fosfatase Alcalina. **A e B:** safra – 2021, **C e D:** safra – 2022.

5.1.6 EFEITO DA INOCULAÇÃO E DA DUBAÇÃO FOFATADA NA ARQUITETURA RADICULAR DO MILHO, ASSOCIADO A PRODUTIVIDADE, DIVERSIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA, COLONIZAÇÃO MICORRIZICA E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM SPD CONSOLIDADO E NÃO CONSOLIDADO

No primeiro ano foi observado correlação positiva entre a produtividade, AREA, SKL_DEPTH e P resina. Já a AREA apresentou correlação significativa positiva com WIDTH_MED, SKL_DEPTH, ANG_TOP, LT_AVG_DIA. Observamos que a colonização micorrízica apresentou correlação negativa com a AREA, SKL_DEPTH e o P resina. Já a característica D10 apresentou correlação negativa com ANG_TOP e WIDTH_MED (Figura 10).

No segundo ano foi observada uma correlação significativa positiva entre a produtividade e a colonização micorrízica. A AREA apresentou alta correlação positiva com D10, SKL_DEPTH, LT_AVG_DIA. Observamos que a colonização micorrízica apresentou correlação positiva com ANG_TOP e Fosfatase Ácida, também observamos forte correlação positiva entre o P resina e Fosfatase Alcalina. ANG_TOP apresentou correlação negativa com a AREA, D10 e SKL_DEPTH, observamos também correlação negativa entre SKL_DEPTH e colonização micorrízica (Figura 10).

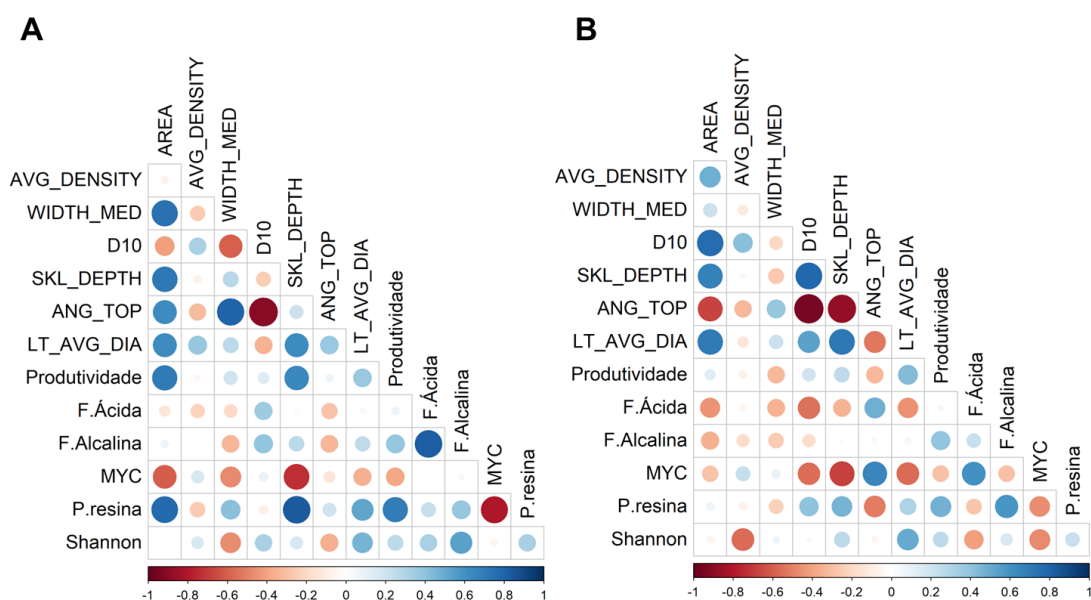


Figura 10. Correlação linear de Pearson das características da arquitetura do sistema radicular (ASR) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada

(SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, Produtividade, F.Ácida, F.Alcalina, MYC: Colonização micorrízica Arbuscular, P resina e Shannon: Índice de diversidade de Shannon-Wiener - H'. **A** – Safra 2021, **B** – Safra 2022.

Na análise dos componentes principais do primeiro ano o componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2) explicaram 64,3% da variação fenotípica (Figura 16), Área de raiz projetada (AREA) foi a característica com maior contribuição (18,4%) (Tabela 10).

Tabela 10. Contribuição das características da arquitetura do sistema radicular (ASR), Produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina nas safras de 2021/2022 e 2022/2023.

2021/2022			2022/2023		
Característica ASR	Contribuição PC1	PC2	Característica ASR	Contribuição PC1	PC2
AREA	18,48	0,08	AREA	9,99	13,02
AVG_DENSITY	0,74	1,20	AVG_DENSITY	0,32	19,75
WIDTH_MED	9,95	8,75	WIDTH_MED	0,37	2,09
D10	4,70	13,89	D10	14,71	5,35
SKL_DEPTH	14,22	2,37	SKL_DEPTH	15,60	0,01
ANG_TOP	7,52	12,79	ANG_TOP	16,14	1,31
LT_AVG_DIA	9,25	1,63	LT_AVG_DIA	11,79	0,39
Produtividade	8,49	5,45	Produtividade	3,54	8,42
Fosfatase Ácida	0,04	12,15	Fosfatase Ácida	7,48	0,57
Fosfatase Alcalina	0,19	20,70	Fosfatase Alcalina	0,07	21,63
MYC	11,00	0,41	MYC	11,58	4,53
P resina	15,32	4,52	P resina	6,26	8,96
Shannon	0,09	16,07	Shannon	2,15	13,96

Foi observado por meio do PCA uma distribuição dos tratamentos de acordo com o sistema de plantio, os tratamentos em SPD consolidado se agruparam nos quadrantes a esquerda já os tratamentos em SPD não consolidado se agruparam a direita, também podemos observar a proximidade dos tratamentos em SPD

consolidado, ao contrário dos tratamentos em SPD não consolidado que apresenta distribuição espaçada (Figura 11).

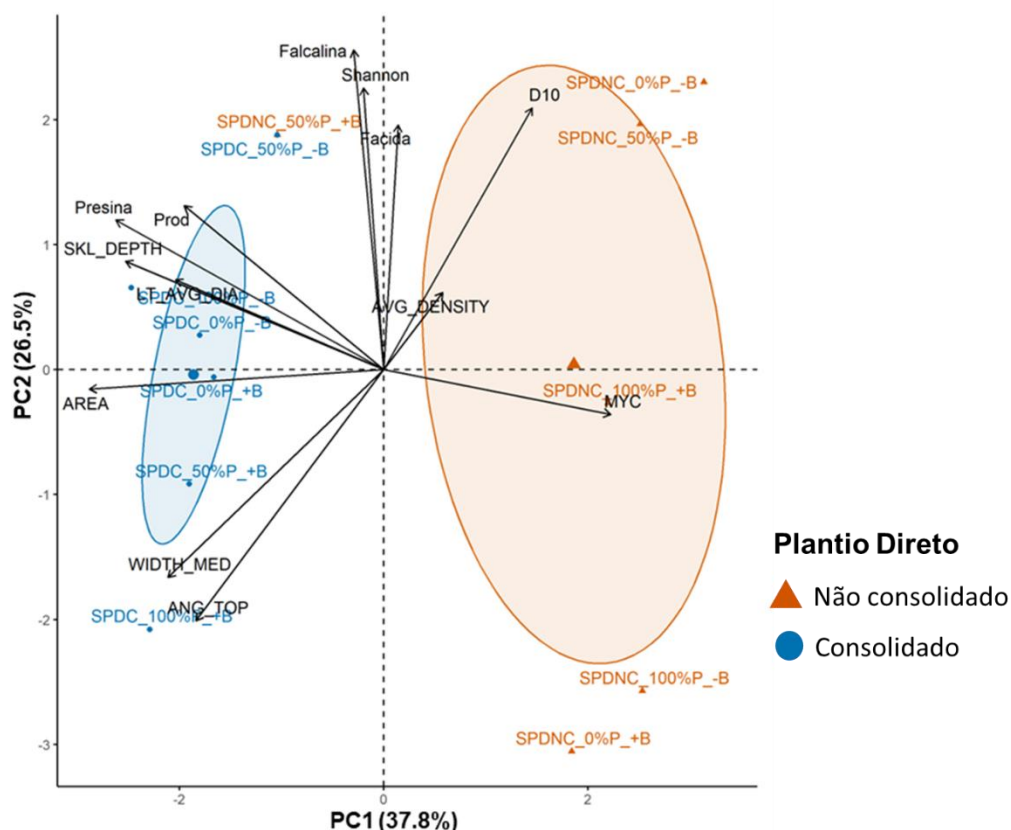


Figura 11. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) e não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina. SPDNC_0%P-B: SPD não consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDNC_50%P-B: SPD não consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDNC_100%P-B: SPD não consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDNC_0%P+B: SPD não consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDNC_50%P+B: SPD não consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDNC_100%P+B: SPD não consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDC_0%P-B: SPD consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDC_50%P-B: SPD consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem

Bioinoculante, SPDC_100%P-B: SPD consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDC_0%P+B: SPD consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDC_50%P+B: SPD consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDC_100%P+B: SPD consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante. ● SDP consolidado (SPDC), ▲ SPD não consolidado (SPDNC).

Os tratamentos em SPD não consolidado tiveram maior contribuição da colonização micorrízica e D10, já os tratamentos em SPD consolidado tiveram maior contribuição das características da arquitetura do sistema radicular, produtividade e índices de diversidade. O tratamento em baixo P com dose 100% de adubação fosfatada com inoculação apresentaram os maiores valores para colonização micorrízica. Os tratamentos em Baixo P com dose 0% de adubação sem inoculação e dose 50% de adubação sem inoculação apresentaram maior valor para D10 (Figura 11).

O tratamento em SPD consolidado com inoculação nas três doses de adubação 0, 50 e 100% tiveram maiores valores para ANG_TOP, WIDTH_MED e AREA. Já os tratamentos em SPD consolidado sem inoculação nas doses 100 e 50% da adubação tiveram maiores valores para SKL_DEPTH e LT_AVG_DIA. Os tratamentos em SPD consolidado com 50% da adubação e sem inoculação e SPD não consolidado com 50% da adubação e inoculação ficaram próximos com valores maiores para índices de diversidade e para as atividades enzimáticas das Fosfatases Ácidas e Alcalinas. O tratamento em SPD não consolidado com 50% da adubação fosfatada com inoculação se agrupou com os tratamentos em SPD consolidado o que pode indicar que doses intermediárias de adubação associadas a inoculação podem obter efeitos positivos (Figura 11).

Para as áreas separadas observamos na análise dos componentes principais (PCA) da área de SPD consolidado no primeiro ano, que o componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2) explicaram 56,9% da variação fenotípica (Figura 12), WIDTH_MED foi a característica com maior contribuição (18,6%) (Tabela 11).

Os tratamentos na área de SPD consolidado apresentaram uma separação de acordo com a inoculação. Os tratamentos inoculados apresentaram maior

contribuição das características da arquitetura do sistema radicular, produtividade, já os tratamentos não inoculados apresentaram maior contribuição da colonização micorrízica, atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina e índice de diversidade. Observamos correlação positiva da produtividade com a AREA, assim como correlação positiva da atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina com índice de diversidade (Figura 12).

Tabela 11. Contribuição das características da arquitetura do sistema radicular (ASR), produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H' , P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina nas áreas de SPD consolidado e não consolidado na safra de 2021/2022.

SPD consolidado			SPD não consolidado		
Característica ASR	Contribuição		Característica ASR	Contribuição	
	PC1	PC2		PC1	PC2
AREA	8,67	4,97	AREA	1,13	31,22
AVG_DENSITY	9,00	13,74	AVG_DENSITY	0,08	0,17
WIDTH_MED	18,69	3,14	WIDTH_MED	3,76	16,18
D10	0,92	3,13	D10	9,91	7,51
SKL_DEPTH	2,00	5,37	SKL_DEPTH	10,14	3,39
ANG_TOP	7,66	6,85	ANG_TOP	7,68	15,89
LT_AVG_DIA	14,75	3,00	LT_AVG_DIA	0,67	13,61
Produtividade	0,31	3,65	Produtividade	10,76	8,55
Fosfatase Ácida	9,75	1,69	Fosfatase Ácida	9,06	0,08
Fosfatase Alcalina	10,08	7,98	Fosfatase Alcalina	15,10	0,02
MYC	3,27	0,59	MYC	11,38	0,07
P resina	6,62	22,52	P resina	15,35	1,49
Shannon	8,28	12,62	Shannon	4,98	1,83

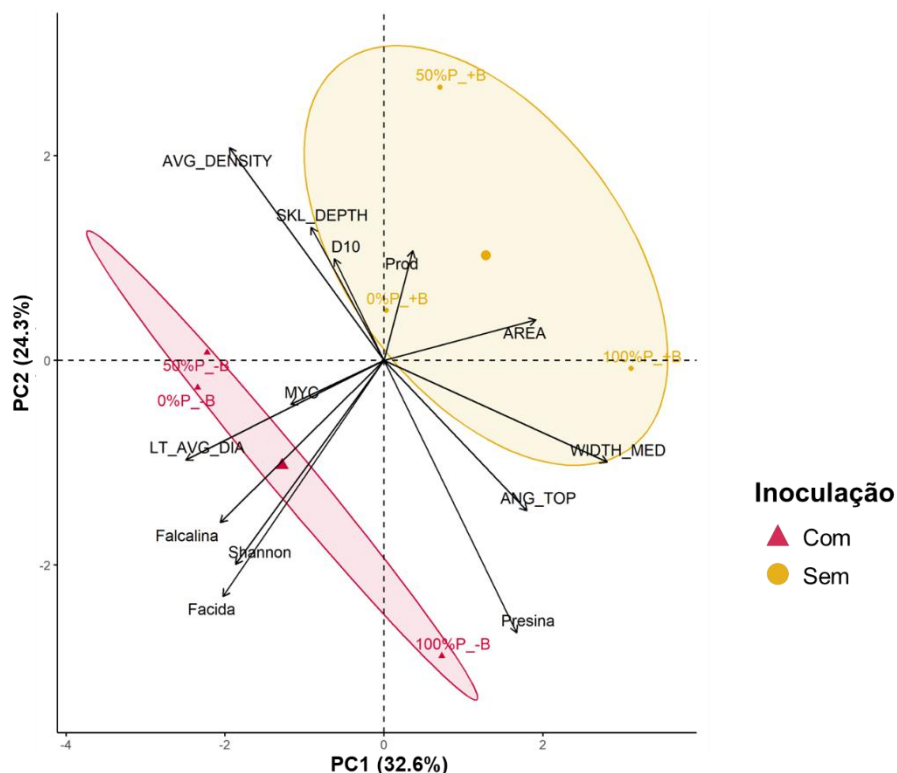


Figura 12. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) nas safras 2021/2022. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina. 0%P_-B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 50%P_-B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 100%P_-B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 0%P_+B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 50%P_+B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 100%P_+B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante. ▲ Com inoculação ● Sem inoculação.

Na análise dos componentes principais (PCA) da área de SPD não consolidado no primeiro ano, que o componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2) explicaram 69% da variação fenotípica (Figura 13), P resina foi a característica com maior contribuição (15,3%) (Tabela 11).

Os tratamentos inoculados apresentaram maior contribuição das características da arquitetura do sistema radicular principalmente AREA,

WIDTH_MED, ANG_TOP e LT_AVG_DIA, essas características tiveram correlação positiva com a produtividade. Os tratamentos não inoculados tiveram maior contribuição da diversidade, o tratamento 100% da adubação sem inoculação teve maiores valores para micorrização. Observamos correlação positiva entre a produtividade e as características da ASR e a atividade enzimática da fosfatase ácida e alcalina (Figura 13).

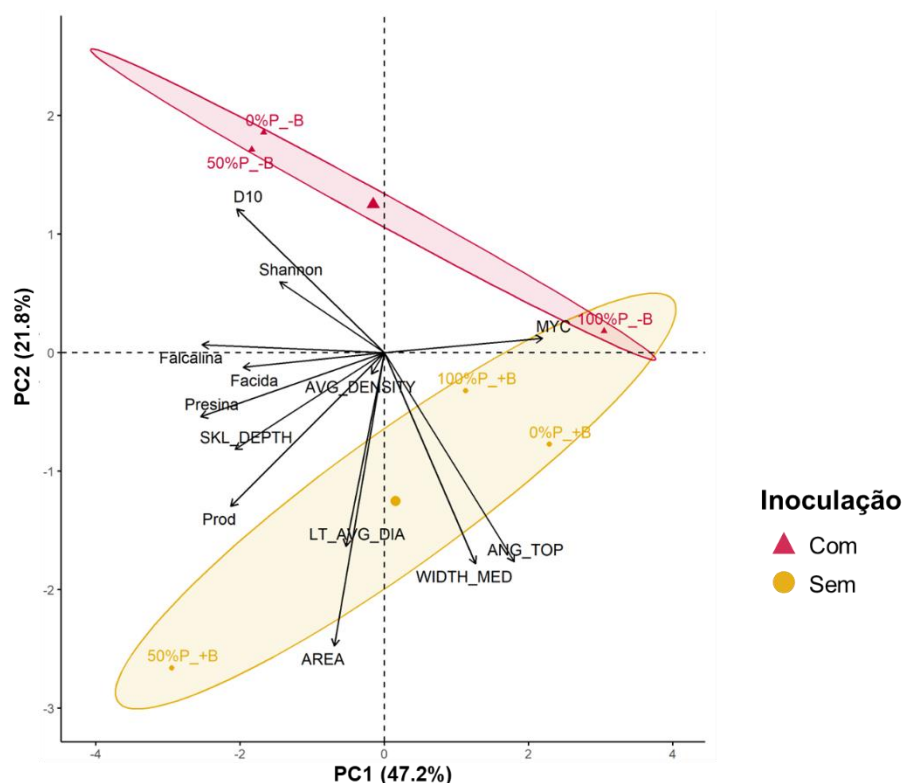


Figura 13. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD não consolidada (SPDNC) nas safras 2021/2022. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina. 0%P₋B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 50%P₋B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 100%P₋B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 0%P₊B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 50%P₊B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 100%P₊B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante. ▲ Com inoculação ● Sem inoculação.

10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina. SPDNC_0%P-B: SPD não consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDNC_50%P-B: SPD não consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDNC_100%P-B: SPD não consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDNC_0%P+B: SPD não consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDNC_50%P+B: SPD não consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDNC_100%P+B: SPD não consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDC_0%P-B: SPD consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDC_50%P-B: SPD consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDC_100%P-B: SPD consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, SPDC_0%P+B: SPD consolidado, dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDC_50%P+B: SPD consolidado, dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, SPDC_100%P+B: SPD consolidado, dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante. ● SDP consolidado (SPDC), ▲ SPD não consolidado (SPDNC).

Os tratamentos em SPD não consolidado (Baixo P) de modo geral tiveram maior contribuição da colonização micorrízica e ANG_TOP, já os tratamentos em SPD consolidado tiveram maior contribuição das características da arquitetura do sistema radicular, produtividade e índices de diversidade (Figura 14).

O tratamento em SPD não consolidado com dose 0 e 50% de adubação fosfatada sem inoculação apresentaram os maiores valores para o ANG_TOP e atividade enzimática da Fosfatase Ácida. Os tratamentos em SPD não consolidado com dose 0 e 50% de adubação com inoculação tiveram forte relação com a colonização micorrízica assim como o tratamento em SPD não consolidado com dose 100% da adubação sem inoculação. O tratamento em SPD não consolidado com dose 100% da adubação com inoculação ficou distribuído no quadrante superior esquerdo próximo os tratamentos em SPD consolidado e teve o maior valor para o AVG_DENSITY (Figura 14).

O tratamento em SPD consolidado com inoculação nas doses de adubação 50 e 100% tiveram maior relação com AREA, D10 e SKL_DEPTH, já o tratamento em SPD consolidado com inoculação na dose 0% da adubação fosfatada teve o maior valor para o P resina. O tratamento em SPD consolidado sem inoculação com 100% da adubação fosfatada teve maior relação com LT_AVG_DIA, já o

tratamento em SPD consolidado sem inoculação com dose 50% da adubação teve forte relação com a Produtividade e Índice de diversidade. O tratamento em SPD consolidado com dose 0% da adubação fosfatada em inoculação ficou distribuído no quadrante inferior direito mais próximo dos tratamentos em SPD não consolidado e teve maiores valores para atividade enzimática da Fosfatase Alcalina (Figura 14).

Para as áreas separadas observamos na análise dos componentes principais (PCA) da área de SPD consolidado no segundo ano, que o componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2) explicaram 68,5% da variação fenotípica (Figura 15), AREA foi a característica com maior contribuição (15,46%) (Tabela 12).

Os tratamentos na área de SPD consolidado não apresentaram uma separação bem definida, mas os tratamentos inoculados apresentaram maior contribuição das características da arquitetura do sistema radicular, produtividade e índice de diversidade, já os tratamentos não inoculados apresentaram maior contribuição da atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina e ANG_TOP. Observamos correlação positiva da produtividade com as características da ASR. (Figura 15).

Tabela 12. Contribuição das características da arquitetura do sistema radicular (ASR), Produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina na área de SPD consolidado e não consolidado na safra de 2022/2023.

SPD consolidado			SPD não consolidado		
Característica ASR	Contribuição PC1	PC2	Característica ASR	Contribuição PC1	PC2
AREA	15,46	2,24	AREA	16,26	0,12
AVG_DENSITY	13,18	6,72	AVG_DENSITY	3,90	6,48
WIDTH_MED	1,42	1,89	WIDTH_MED	1,91	15,63
D10	15,23	2,14	D10	15,56	2,97
SKL_DEPTH	9,42	1,56	SKL_DEPTH	15,06	0,00
ANG_TOP	14,92	1,16	ANG_TOP	15,10	4,53
LT_AVG_DIA	5,75	2,04	LT_AVG_DIA	5,68	2,51
Produtividade	4,56	6,19	Produtividade	1,88	5,68
Fosfatase Ácida	4,28	2,13	Fosfatase Ácida	4,38	11,00
Fosfatase Alcalina	10,30	7,37	Fosfatase Alcalina	5,08	9,62
MYC	0,02	2,89	MYC	7,09	7,71
P resina	0,28	6,86	P resina	1,41	19,74
Shannon	5,19	4,51	Shannon	6,68	14,00

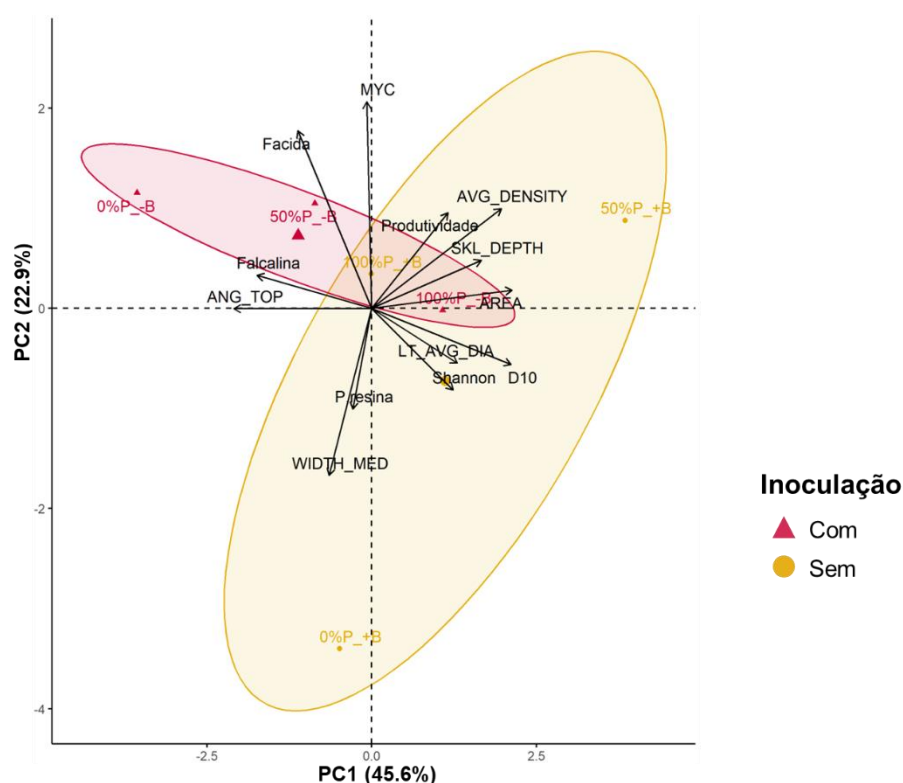


Figura 15. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD consolidada (SPDC) nas safras 2022/2023. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina. 0%P_-B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 50%P_-B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 100%P_-B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 0%P_+B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 50%P_+B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 100%P_+B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante. ▲ Com inoculação ● Sem inoculação.

Na análise dos componentes principais (PCA) da área de SPD não consolidado no segundo ano, que o componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2) explicaram 70,5% da variação fenotípica (Figura 16), AREA foi a característica com maior contribuição (16,26%) (Tabela 12).

Os tratamentos na área de SPD não consolidado apresentaram uma separação bem definida. Os tratamentos inoculados apresentaram maior contribuição das características ASR, já os tratamentos não inoculados apresentaram maior contribuição da atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina, colonização micorrízica e produtividade. Observamos correlação positiva da atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina, colonização micorrízica e produtividade (Figura 16).

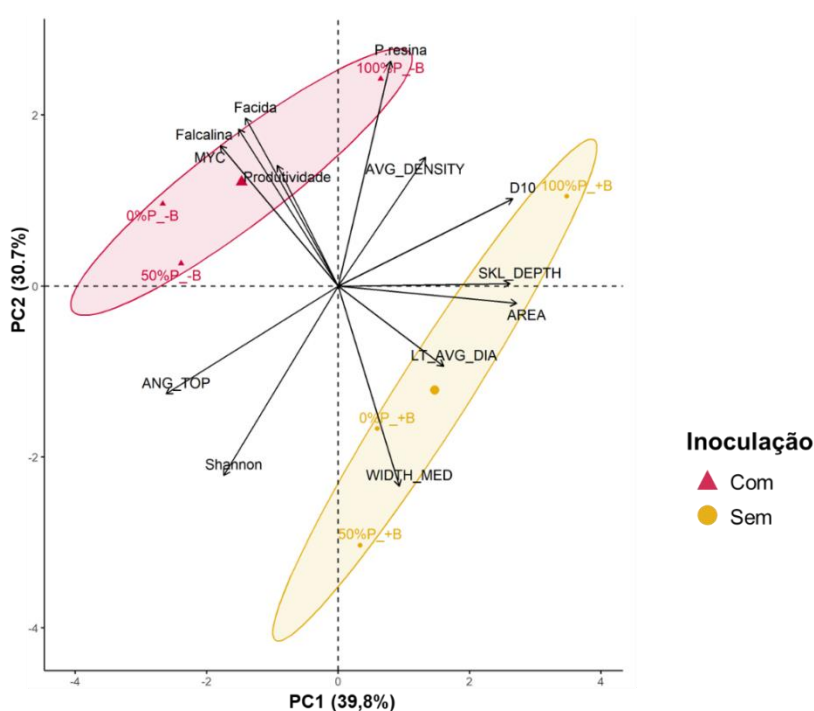


Figura 16. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50 100 kg ha⁻¹) em áreas de SPD não consolidada (SPDNC) nas safras 2022/2023. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina. 0%P₋B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 50%P₋B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 100%P₋B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 0%P₊B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 50%P₊B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 100%P₊B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante. ▲ Com inoculação ● Sem inoculação.

6.1 DISCUSSÃO

A área com Sistema de Plantio Direto (SPD) consolidado apresentou maiores valores de produtividade e teor de fósforo no solo em comparação à área de SPD recém-implantado (Tabelas 4 e 5). Esse tipo de manejo favorece o acúmulo de matéria orgânica, resultante da decomposição da palhada e da ciclagem de nutrientes (Xavier et al., 2019; Hobbs et al., 2008). A adoção de sistemas conservacionistas como o SPD pode promover um aumento médio de 12% no rendimento das culturas, devido à maior disponibilidade de fósforo, incremento de matéria orgânica, redução da compactação do solo e melhoria da ciclagem de nutrientes (Ren, 2023).

O maior valor de P resina observado na ausência de inoculação pode estar associado à maior ciclagem e absorção do fósforo promovidas pelas BSFs, o que reduz os níveis residuais do nutriente no solo (Billah et al., 2019), como observado nas Tabelas 5. A inoculação teve efeito positivo sobre a produtividade nas áreas com SPD consolidado, resultando em maiores rendimentos sob essa condição. Por outro lado, nas áreas de SPD recém-implantado, os maiores valores de produtividade foram observados nos tratamentos sem inoculação. Esses resultados indicam que a resposta das plantas à inoculação e à adubação fosfatada pode variar conforme o grau de consolidação do sistema de plantio direto. A diferença significativa observada no tratamento com 50% da adubação sem inoculação em SPD não consolidado sugere que, em sistemas ainda em transição ou com manejo mais perturbado, doses reduzidas de adubação podem apresentar melhor desempenho.

Em relação à arquitetura do sistema radicular (ASR), foram observadas diferenças marcantes entre o SPD consolidado e o recém-implantado (Tabela 6). Na área com SPD consolidado, as plantas apresentaram raízes maiores e mais robustas nas duas safras (Tabela 7), com maior área radicular, ângulo superior, diâmetro médio das raízes laterais e maior profundidade de enraizamento. Esses atributos radiculares estiveram associados ao aumento da produtividade nas condições de SPD consolidado, evidenciando a importância do tempo de adoção do sistema conservacionista para a estruturação do solo e o desenvolvimento radicular. O maior desenvolvimento do sistema radicular pode estar associado ao

aumento no teor de matéria orgânica, à melhoria na ciclagem de nutrientes e, sobretudo, à redução da compactação do solo. Esses fatores favorecem a formação de raízes laterais mais robustas e com ângulos mais amplos, indicando uma maior distribuição horizontal nas camadas superficiais do solo, regiões caracterizadas por maior acúmulo de matéria orgânica e disponibilidade de nutrientes. Resultados semelhantes foram reportados por Mehra et al. (2020) e Wang et al. (2024), os quais observaram um incremento no desenvolvimento radicular com a adoção do SPD.

A utilização de dois híbridos de milho diferentes, P3551PWU na primeira safra e FS615PWU na segunda, pode explicar a diferença de estrutura e tamanho das raízes nos 2 anos. Caracterizado por um desenvolvimento intermediário/precoce, o híbrido P3551PWU possui desenvolvimento de raízes mais profundas típicas de híbridos de ciclo mais longo (Pioneer, 2025), ao contrário do híbrido FS615PWU, que possui raízes mais superficiais porém de desenvolvimento rápido, característica comum de híbridos de ciclo super precoce (Forseed, 2025), como esperado observamos essa diferença na profundidade do enraizamento do esqueleto das raízes, em que no primeiro ano o híbrido P3551PWU atingiu maiores profundidades das raízes em relação ao híbrido FS615PWU utilizado no segundo ano.

Além disso na segunda safra não observamos diferença significativa no tamanho da área e largura das raízes sendo impactada pelo SPD como foi observado na primeira safra, o que também pode ter relação com a diferença dos híbridos, já que os genótipos de ciclo precoce como o híbrido FS615PWU tendem a lidar melhor com a compactação do solo, sendo assim as diferenças de desenvolvimento radicular evidenciadas pelo SPD consolidado e não consolidado podem ter sido minimizadas.

Embora a inoculação não tenha promovido diferenças estatisticamente significativas na ASR em ambos os anos (Tabela 6), observou-se um efeito positivo, evidenciado pela presença de raízes mais longas, espessas e densas (Figura 1 e 2) Esse resultado pode estar associado à atividade fitoestimuladora das BSFs, que são capazes de sintetizar fitormônios como auxinas e giberelinas, os quais

desempenham papel fundamental na promoção do crescimento e desenvolvimento do sistema radicular (Richardson et al., 2009).

A composição da comunidade genética bacteriana e de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) também diferiu significativamente entre SPD consolidado e recém-implantado (Figura 3), refletindo os efeitos do manejo conservacionista na melhoria da qualidade do solo (Kassam, 2014). O acúmulo de matéria orgânica na superfície do solo, comum em SPD, favorece a diversidade microbiana (Yadav et al., 2017). Uma meta-análise (Li et al. 2020) mostrou esse mesmo efeito positivo do SPD sobre a diversidade bacteriana (Tabela 9). A composição da comunidade bacteriana foi significativamente modulada pela interação entre inoculação e adubação fosfatada (Figuras 4), enquanto os efeitos isolados de cada fator não foram significativos (Figuras 3). Isso indica um efeito sinérgico na estrutura da comunidade, embora nem sempre esse efeito reflita em maior diversidade.

A análise de abundância relativa revelou maior presença de filos adaptados à solubilização de fósforo, como Bacillota e Pseudomonadota (Figura 5), os quais produzem fosfatases eficientes (Rodrigues e Fraga, 1999). A maior abundância de Pseudomonadota na ausência da inoculação sugere um possível efeito de competição com microrganismos introduzidos, como relatado por Shade et al. (2012).

Na primeira safra, observou-se efeito significativo da interação entre SPD, inoculação e adubação sobre a diversidade da comunidade bacteriana (índice de Chao; Tabela 9). A maior riqueza foi observada no SPD recém-implantado com inoculação e sem adubação. A ausência de adubação pode evitar o favorecimento de espécies dominantes, enquanto a inoculação com BSFs solubiliza o fósforo nativo do solo, promovendo maior diversidade. Na segunda safra, os índices de Shannon e Simpson foram superiores no SPD consolidado (Tabela 9), possivelmente a menor disponibilidade de fósforo no SPD recém-implantado pode ter gerado um efeito de “especialização funcional” (Dai et al., 2020), selecionando poucos indivíduos adaptados a essa condição.

A adubação também influenciou a diversidade bacteriana, observou-se maior diversidade com 50% da dose recomendada de fósforo (Tabela 9), similar ao

efeito da ausência de adubação na primeira safra. Isso indica que dosagens reduzidas, associadas à inoculação, podem favorecer a diversidade microbiana (Liu et al., 2022; Haokip et al., 2019; Yue et al., 2022; Chhabra et al., 2013). Os diferentes padrões de diversidade ao longo das safras sugerem que o agroecossistema microbiano apresenta resiliência e capacidade de adaptação às interações entre SPD, inoculação e adubação. No primeiro ano, os efeitos foram mais complexos, enquanto no segundo, predominaram os efeitos simples. Como proposto por Allison (2004) e Downing e Leibold (2010), a diversidade está diretamente associada à resiliência das comunidades microbianas, o que pode explicar a maior estabilidade da comunidade bacteriana nas áreas de SPD consolidado.

A colonização por FMA foi maior no SPD recém-implantado (Figura 8), provavelmente devido à menor disponibilidade de fósforo. Wang et al. (2017) demonstraram que altas concentrações de fósforo reduzem a colonização micorrízica. A menor matéria orgânica e o menor desenvolvimento radicular nas áreas de SPD não consolidado podem ter estimulado maior emissão de exsudatos, favorecendo a colonização por FMA como estratégia de adaptação a estresses nutricionais.

A atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina foi influenciada pelo pH ácido do solo e apresentou maior intensidade no SPD consolidado na primeira safra. Segundo Zheng et al. (2021), essa atividade é regulada pela disponibilidade de fósforo, biomassa e composição microbiana. No segundo ano, a atividade da fosfatase ácida foi maior no SPD recém-implantado, refletindo o estresse por deficiência de fósforo e a atuação da colonização micorrízica na solubilização de nutrientes. A inoculação influenciou significativamente a atividade das fosfatases (Figura 9), porém, ao contrário do esperado, os maiores valores foram observados na ausência da inoculação. Esse resultado pode estar relacionado ao efeito de prioridade, em que a comunidade nativa, por ser mais bem adaptada, inibe o estabelecimento e a funcionalidade dos microrganismos introduzidos (Debray et al., 2022).

As análises de PCA revelaram forte associação entre os tratamentos inoculados e os maiores valores de características da ASR (Figuras 12, 13, 15 e

16), também evidenciada nas médias da Tabela 7. A ASR influencia diretamente a diversidade microbiana rizosférica por meio dos exsudatos radiculares, que servem como fonte de carbono e sinalização para os microrganismos (Dennis et al., 2010). Uma maior distribuição horizontal das raízes permite maior interação com a camada superficial do solo, onde há maior abundância de matéria orgânica e microrganismos, favorecendo o estabelecimento de comunidades mais diversas.

Dessa forma, a inoculação pode atuar como um modulador indireto da diversidade, por meio de seus efeitos sobre a ASR. Isso pode justificar a maior diversidade observada nas áreas de SPD consolidado, que apresentaram raízes mais desenvolvidas. As PCAs mostraram que os índices de diversidade e as características da ASR estavam mais próximos dos tratamentos em SPD consolidado (Figuras 11 e 14).

A maior produtividade nas áreas de SPD consolidado com inoculação também pode estar associada ao melhor desenvolvimento radicular e à maior disponibilidade de fósforo (P resina), a qual teve correlação positiva com a produtividade em ambas as safras (Figuras 11 e 14). O sistema de plantio direto (SPD) consolidado demonstrou maior eficiência agrônômica e biológica em comparação ao SPD recém-implantado, resultando em maiores índices de produtividade, teores de fósforo no solo, desenvolvimento radicular e diversidade microbiana. A inoculação com bioinoculantes fosfato-solubilizadores teve um efeito positivo tanto na produtividade quanto na arquitetura do sistema radicular (ASR), com destaque para as áreas de SPD consolidado.

A redução da adubação fosfatada, quando associada à inoculação, mostrou-se eficaz ao promover maior diversidade microbiana e manter níveis adequados de produtividade, sugerindo um uso mais racional e sustentável dos fertilizantes. Os resultados indicam que a combinação de doses reduzidas de fósforo com microrganismos solubilizadores favorece a formação de uma comunidade microbiana mais diversa e funcional, capaz de atender parte das necessidades nutricionais das plantas de maneira eficiente.

Os resultados obtidos evidenciam que o grau de consolidação do Sistema de Plantio Direto (SPD) exerce influência determinante sobre a resposta das

plantas à inoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato e à adubação fosfatada. Em SPD consolidado, observou-se maior produtividade, melhor desenvolvimento radicular, maior diversidade microbiana e menor variabilidade nas respostas, refletindo um ambiente mais estável e favorável à ação dos bioinoculantes.

Por outro lado, o SPD recém-implantado apresentou maior colonização micorrízica e respostas mais heterogêneas, indicando que, nesses ambientes, o sucesso da inoculação depende de uma melhor adaptação das cepas utilizadas e do manejo de fertilizantes.

Em conjunto, os achados reforçam a importância de considerar o estado físico-biológico do solo na tomada de decisão quanto ao uso de bioinsumos e indicam que doses intermediárias de fósforo, quando associadas a inoculantes, podem representar uma estratégia eficaz e sustentável para a agricultura tropical.

5.2 RESULTADOS

5.2.1 DADOS AGRONÔMICOS – MILHO INOCULADO COM BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EM DIFERENTES TIPOS DE MANEJO DA ADUBAÇÃO FOSFATADA NO TOCANTINS.

Nos dois anos de avaliação, não foram observadas diferenças significativas na produtividade em função da adubação fosfatada isoladamente, da inoculação com bioinoculantes, ou da interação entre ambos os fatores. Os valores de produtividade foram superiores na segunda safra (Tabelas 13 e 14).

Na análise do fósforo disponível (P resina), não foram observadas diferenças significativas em função da adubação fosfatada ou da inoculação com bioinoculantes no primeiro ano. No entanto, no segundo ano, a adubação fosfatada apresentou efeito significativo, com os maiores teores de P resina registrados nos tratamentos com 125% da dose recomendada (Tabelas 13 e 14).

Tabela 13. Análise de variância (ANOVA) da produtividade (kg ha⁻¹) e P resina (mg dm⁻³) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Fonte de variação	Quadrado Médio	
		Produtividade (kg ha ⁻¹)	P resina (mg dm ⁻³)
2021/2022	Bloco	4	2
	Inoculação	6	3
	Adubação	5	4
	Inoculação*Adubação	2	6
	Coeficiente de Variação (%)	9,82	61.06
2022/2023	Bloco	5	5 *
	Inoculação	6	2
	Adubação	4	4 *
	Inoculação*Adubação	3	3
	Coeficiente de Variação (%)	18,63	25.15

Tabela 14. Produtividade (kg ha^{-1}) e P resina (mg dm^{-3}) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75 100 e 125 kg ha^{-1}) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Tratamento	Produtividade (kg ha^{-1})	P resina (mg dm^{-3})
2021/2022	Inoculado	140,47 a	25.31 a
	Não Inoculado	142,35 a	26.76 a
	0%	131,59 a	21,57 a
	50%	143,10 a	18,63 a
	75%	148,92 a	29,47 a
	100%	143,71 a	31,13 a
	125%	139,72 a	29,36 a
2022/2023	Inoculado	191,56 a	28.37 a
	Não Inoculado	174,02 a	32.29 a
	0%	174,03 a	25,68 b
	50%	177,32 a	23,48 b
	75%	169,20 a	31,17 ab
	100%	186,13 a	31,53 ab
	125%	207,25 a	39,77 a

5.2.2 ANÁLISE DA ARQUITETURA DO SISTEMA RADICULAR

No primeiro ano, foi observado efeito significativo da adubação fosfatada sobre a característica ANG_TOP, com os maiores valores médios registrados na ausência de adubação (0%) e os menores valores nas doses de 100%. Além disso, a interação entre o bioinoculante e a adubação também influenciou significativamente essa variável. Observou-se ainda efeito significativo do bloco experimental sobre a característica WIDTH_MED (Tabelas 15 e 16).

No segundo ano, a inoculação teve efeito significativo sobre a profundidade do sistema radicular (SKL_DEPTH), sendo que os maiores valores médios foram registrados nos tratamentos sem inoculação, com uma diferença de aproximadamente 6%. A adubação também influenciou significativamente as características SKL_DEPTH e LT_AVG_DIA, assim como a interação entre inoculação e adubação. A dose de 75% da adubação apresentou os menores valores médios para ambas as características (Tabelas 15 e 16).

Tabela 15. Análise de variância (ANOVA) das características radiculares de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Quadrado Médio								
Ano	Fonte de variação	AREA	AVG_DENSITY	WIDTH_MED	D10	SKL_DEPTH	ANG_TOP	LT_AVG_DIA
2021/2022	Bloco	6	5	5 *	2	5	6	3
	Inoculação	3	6	6	3	4	3	2
	Adubação	2	2	2	5	2	5 *	6
	Inoculação*Adubação	5	3	4	6	6	4 *	5
	Coeficiente de Variação (%)	24,79	18,57	19,37	15,96	17,12	25,17	9,37
Quadrado Médio								
Ano	Fonte de variação	AREA	AVG_DENSITY	WIDTH_MED	D10	SKL_DEPTH	ANG_TOP	LT_AVG_DIA
2022/2023	Bloco	2	3	6	4	6	4	6
	Inoculação	6	6	2	5	3 *	3	3
	Adubação	5	2	3	3	2 *	2	4 *
	Inoculação*Adubação	4	4	5	2	5 *	6	5 *
	Coeficiente de Variação (%)	14,38	18,72	23,73	10,09	6,08	29,79	5,54

AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais.

Tabela 16. Características radiculares de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Tratamento	AREA	AVG_DENSITY	WIDTH_MED	D10	SKL_DEPTH	ANG_TOP	LT_AVG_DIA
2021/2022	Inoculado	7742,47 a	1,51 a	80,21 a	0,26 a	200,28 a	42,49 a	0,29 a
	Não inoculado	7652,06 a	1,65 a	76,79 a	0,27 a	195,23 a	38,53 a	0,29 a
	0%	7410,48 a	1,59 a	74,91 a	0,24 a	194,98 a	46,90 a	0,29 a
	50%	7420,11 a	1,56 a	80,69 a	0,25 a	193,98 a	43,16 ab	0,29 a
	75%	7378,93 a	1,62 a	82,17 a	0,25 a	186,20 a	45,17 ab	0,27 a
	100%	8260,17 a	1,62 a	71,66 a	0,29 a	217,99 a	30,79 b	0,30 a
	125%	8005,35 a	1,51 a	82,65 a	0,29 a	194,98 a	36,04 ab	0,30 a
Ano	Tratamento	AREA	AVG_DENSITY	WIDTH_MED	D10	SKL_DEPTH	ANG_TOP	LT_AVG_DIA
2022/2023	Inoculado	12916,14 a	1,64 a	87,84 a	0,31 a	274,79 b	28,50 a	0,39 a
	Não inoculado	12599,96 a	1,48 a	88,28 a	0,32 a	292,03 a	25,09 a	0,40 a
	0%	12815,91 a	1,62 a	84,16 a	0,33 a	296,42 a	20,67 a	0,40 a
	50%	12645,48 a	1,61 a	86,14 a	0,31 a	288,73 a	26,53 a	0,40 ab
	75%	11363,44 a	1,51 a	82,82 a	0,32 a	254,20 b	29,38 a	0,37 b
	100%	13232,45 a	1,55 a	87,62 a	0,30 a	288,17 a	28,69 a	0,41 a
	125%	13693,44 a	1,49 a	99,61 a	0,31 a	291,66 a	28,28 a	0,39 ab

AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais

5.2.3 DIVERSIDADE GENÉTICA E ABUNDÂNCIA RELATIVA DA COMUNIDADE BACTERIANA RIZOSFERICA

Foi observada diferença significativa entre a comunidade bacteriana do solo rizosférico e não rizosférico ($p = 0,0007$) no primeiro ano, já no segundo ano não foi observada diferença significativa ($p = 0,11$). Já o bioinoculante impactou significativamente na comunidade bacteriana nos dois anos avaliados ($p = 0,0002$: 2021, $p = 0,09$: 2022), assim como observamos diferença significativa entre os tratamentos quando comparadas as doses adubação fosfatada nos dois anos ($p = 0,011$: 2021, $p = 0,001$: 2022) (Figura 17).

Foi observada diferença significativa no efeito da associação do bioinoculante com a adubação fosfatada nos dois anos de experimento (ANOSIM Adubação $p = 0,0001$, ANOSIM Inoculação $p = 0,0003$: 2021, ANOSIM Adubação $p = 0,0001$, ANOSIM Inoculação $p = 0,0002$: 2022) (Figura 18).

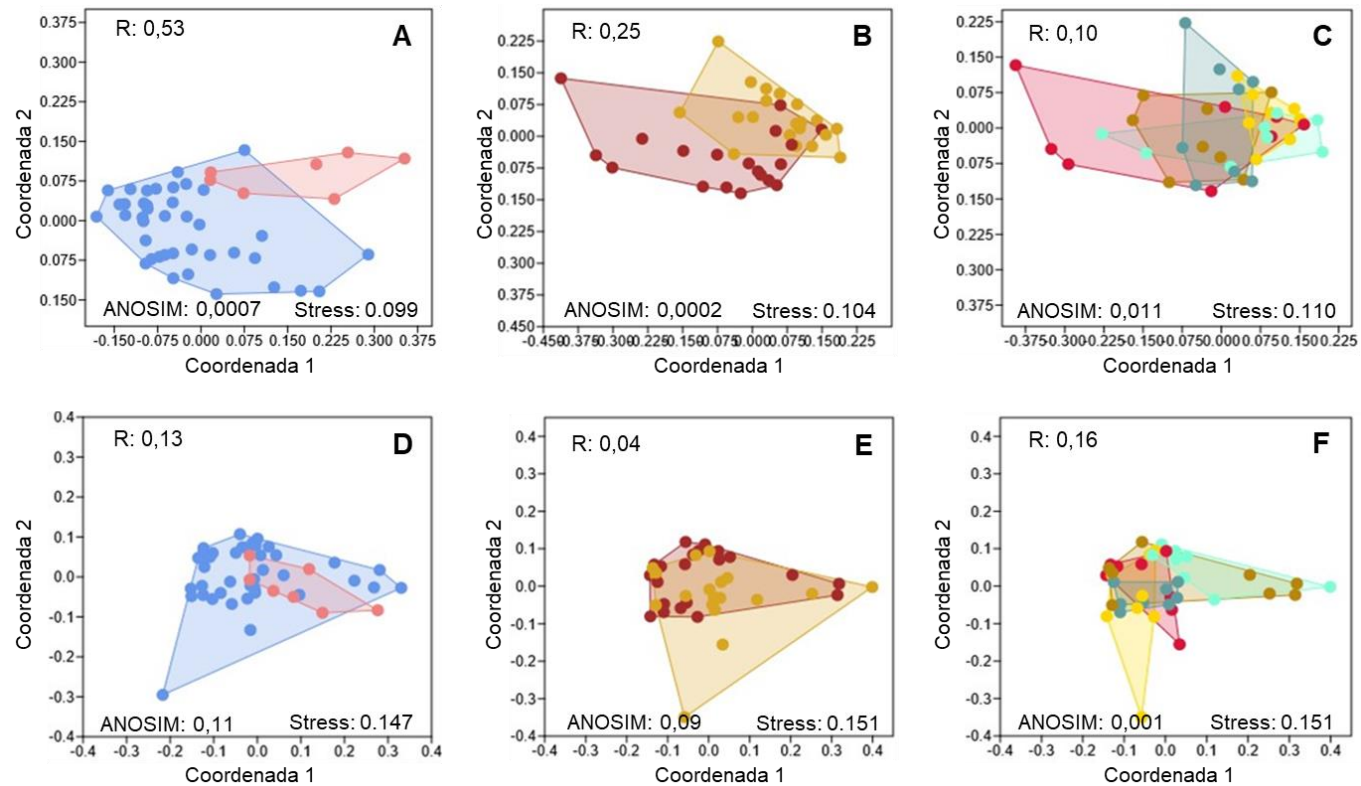


Figura 17. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética bacteriana do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. **A e D:** ● solo rizosférico, **B e E:** ● Presença da inoculação do produto a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato, ● Ausência da inoculação do produto a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato, **C e F:** ● 0% de P₂O₅, ● 50% de P₂O₅, ● 75% de P₂O₅, ● 100% de P₂O₅, ● 125% de P₂O₅, **A, B, C** – Safra 2021, **D, E, F** – Safra 2022.

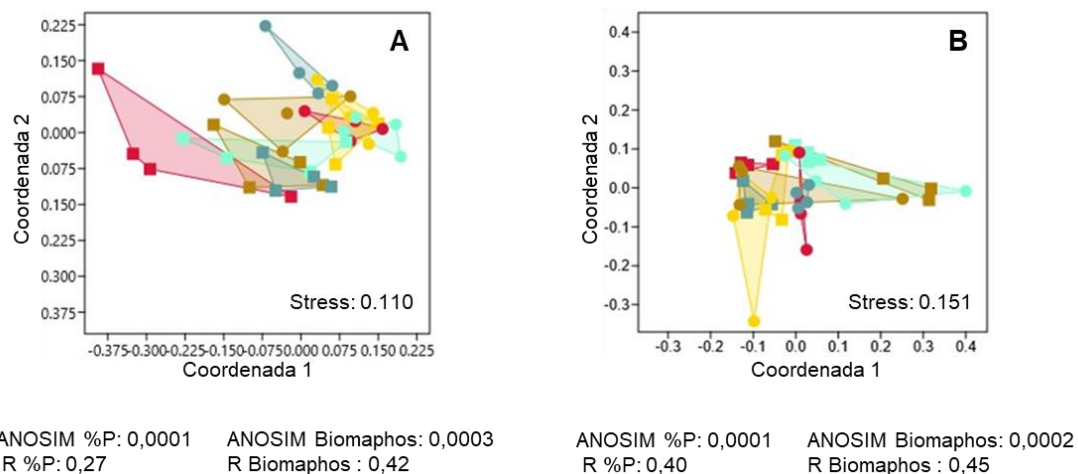


Figura 18. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética bacteriana do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. ● Presença da inoculação do produto a base de estirpes bacterinas solubilizadoras de fosfato, ■ Ausência da inoculação do produto a base de estirpes bacterinas solubilizadoras de fosfato e as dosagens ● 0% de P₂O₅, ● 50% de P₂O₅, ● 75% de P₂O₅, ● 100% de P₂O₅, ● 125% de P₂O₅. **A** – safra 2021 **B** – safra 2022.

Na abundância relativa da comunidade bacteriana rizosférica foram considerados somente os filos com abundância maior ou igual a 5%. Foi observada a presença de três filos predominantes nos dois anos em todos os tratamentos, Actinomycetota, Bacillota, Pseudomonadota e um grupo de indivíduos não classificados (Figura 19).

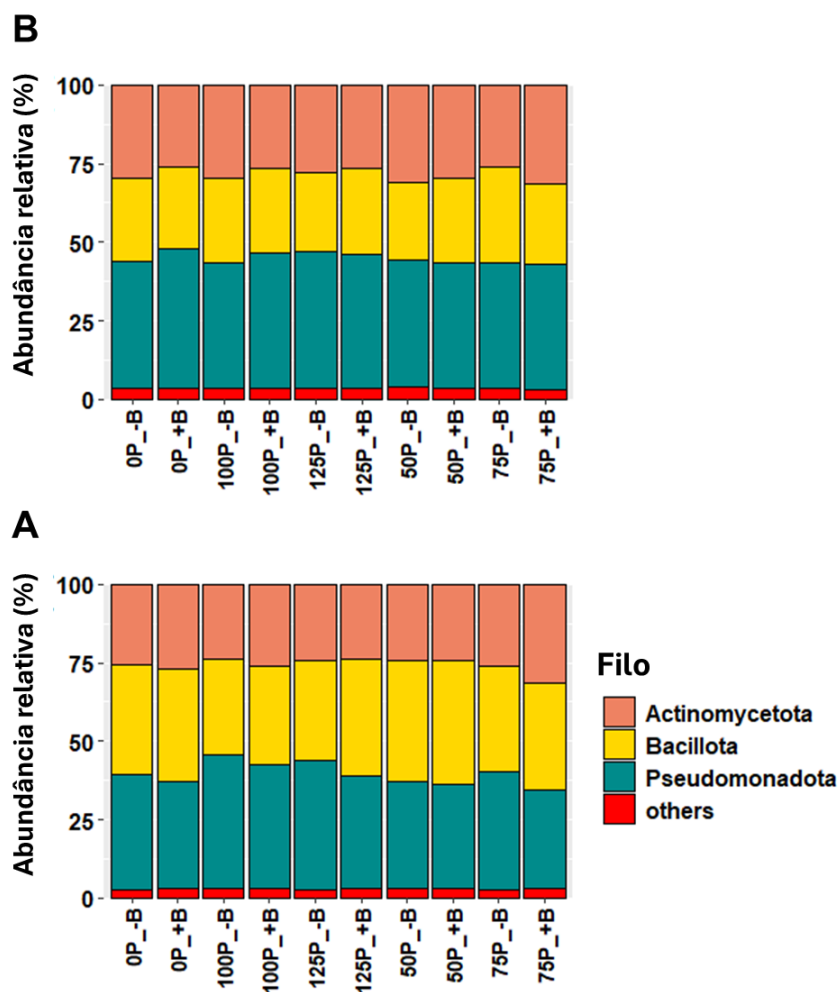


Figura 19. Abundância relativa dos Filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. 0P₋B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 50P₋B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 75P₋B: Dose 75% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 100P₋B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 125P₋B: Dose 125% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 0P₊B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 50P₊B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 75P₊B: Dose 75% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 100P₊B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 125P₊B: Dose 125% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante. **A** – safra 2021, **B** – safra 2022

Foi observado que a adubação fosfatada e o bioinoculante não tiveram impacto significativo na abundância relativa dos filos observados, assim como a interação entre a adubação fosfatada e inoculação, nas duas safras (Tabela 17). Não foram observadas diferenças estatísticas significativa para os índices de diversidade Shannon-Wiener - H', Simpson - D e Chao para os dois anos (Tabela 18).

Tabela 17. Abundância relativa (%) dos Filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Inoculação	Actinomycetota	Bacillota	Pseudomonadota	Others
2021/2022	Inoculado	28,74 a	25,72 a	42,10 a	3,41 a
	Não Inoculado	28,36 a	26,99 a	40,94 a	3,69 a
	0%	28,11 a	25,54 a	42,84 a	3,49 a
	50%	30,31 a	25,81 a	39,99 a	3,87 a
	75%	28,93 a	27,78 a	39,92 a	3,34 a
	100%	27,99 a	26,82 a	41,50 a	3,67 a
	125%	27,38 a	25,98 a	43,22 a	3,41 a
2022/2023	Inoculado	26,48 a	35,33 a	35,00 a	3,16 a
	Não Inoculado	23,54 a	32,84 a	37,22 a	6,38 a
	0%	26,26 a	35,61 a	35,00 a	3,11 a
	50%	20,86 a	34,96 a	32,18 a	11,98 a
	75%	27,62 a	34,26 a	34,98 a	3,12 a
	100%	25,69 a	30,44 a	40,86 a	2,99 a
	125%	24,27 a	34,84 a	37,81 a	3,06 a

Tabela 18. Índices de diversidade de Shannon, Simpson e Chao dos Filos da comunidade bacteriana na rizosfera do milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023.

Ano	Inoculação	Shannon	Simpson	Chao
2021/2022	Inoculado	1,30 a	0,71 a	4,00 a
	Não Inoculado	1,30 a	0,71 a	4,00 a
	0%	1,30 a	0,71 a	4,00 a
	50%	1,31 a	0,71 a	4,00 a
	75%	1,30 a	0,71 a	4,00 a
	100%	1,30 a	0,71 a	4,00 a
	125%	1,30 a	0,71 a	4,00 a
2022/2023	Inoculado	1,30 a	0,71 a	4,0 a
	Não Inoculado	1,26 a	0,69 a	3,9 a
	0%	1,30 a	0,71 a	4,00 a
	50%	1,21 a	0,67 a	3,75 a
	75%	1,30 a	0,71 a	4,00 a
	100%	1,29 a	0,71 a	4,00 a
	125%	1,29 a	0,71 a	4,00 a

5.2.4 DIVERSIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR

Para comunidade FMA foi observada diferença significativa quando comparados solos rizosférico e não rizosférico nos dois anos ($p = 0,0004$: 2021, $p = 0,0014$: 2022). Observamos que o bioinoculante impactou significativamente a comunidade FMA primeiro ano ($p = 0,0001$), no entanto no segundo ano não foi observada a mesma diferença ($p = 0,21$), já para as doses de adubação fosfatada quando comparadas no primeiro ano ($p = 0,0104$) observamos diferença significativa entre os tratamentos, mas não no segundo ano ($p = 0,52$) (Figura 20).

O efeito observado da associação do bioinoculante com a adubação foi significativa no primeiro ano de avaliação (ANOSIM Adubação $p = 0,0001$, ANOSIM Inoculação $p = 0,0001$: 2021), já para o segundo ano não foi observada diferença significativa (ANOSIM Adubação $p = 0,19$, ANOSIM Inoculação $p = 0,22$: 2022) (Figura 21).

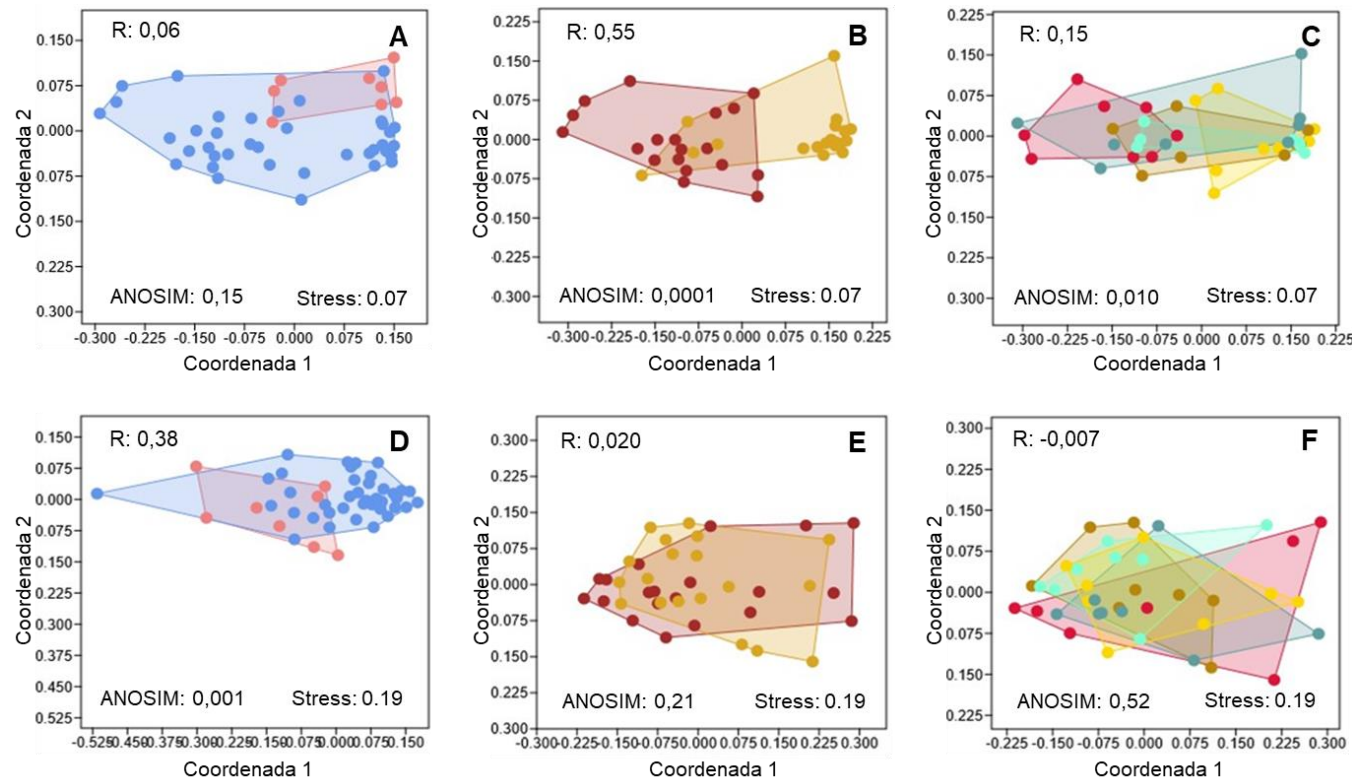


Figura 20. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética de FMA do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. **A e D:** ● solo rizosférico, **B e E:** ● Presença da inoculação do produto a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato, ● Ausência da inoculação do produto a base de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato, **C e F:** ● 0% de P₂O₅, ● 50% de P₂O₅, ● 75% de P₂O₅, ● 100% de P₂O₅, ● 125% de P₂O₅, **A, B, C** – Safra 2021, **D, E, F** – Safra 2022.

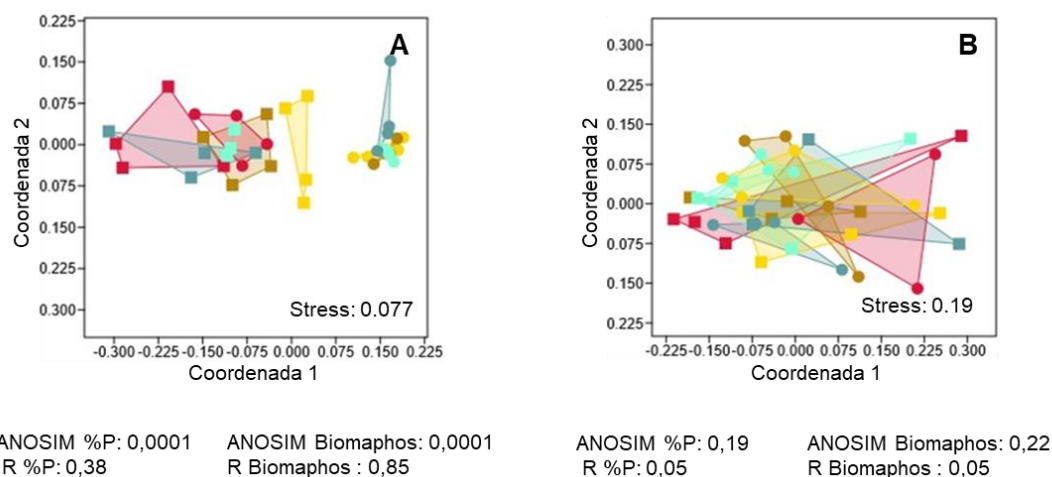


Figura 21. Perfil baseado em escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis da β diversidade genética de FMA do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. ● Presença da inoculação do produto a base de estirpes bacterinas solubilizadoras de fosfato, ■ Ausência da inoculação do produto a base de estirpes bacterinas solubilizadoras de fosfato e as dosagens ● 0% de P₂O₅, ● 50% de P₂O₅, ● 75% de P₂O₅, ● 100% de P₂O₅, ● 125% de P₂O₅. **A** – safr 2021 **B** – safr 2022.

Na avaliação qualitativa e quantitativa da colonização micorrízica arbuscular foi observado que as dosagens de adubação fosfatada tiveram diferença significativa, já a presença e ausência da inoculação não teve impacto significativo na micorrização, assim como a interação entre a adubação fosfatada e inoculação com produto a base de bactérias solubilizadoras (Tabela 19 e 20).

Tabela 19. Análise de variância (ANOVA) da colonização micorrízica arbuscular (%) da rizosfera de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022.

Ano	Fonte de variação	Quadrado Médio Micorrização (%)
2021/2022	Bloco	5
	Inoculação	2
	Adubação	6*
	Inoculação*Adubação	3
	Coeficiente de Variação (%)	18,41

Tabela 20. Colonização micorrízica arbuscular (%) da rizosfera de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100 e 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022.

Ano	Tratamento	Micorrização (%)
2021/2022	Inoculado	0,42 a
	Não Inoculado	0,43 a
	0%	0,37 a
	50%	0,47 a
	75%	0,49 a
	100%	0,38 a
	125%	0,43 a

5.2.5 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DAS FOSFATASES ÁCIDA E ALCALINA

Foi observado com a análise enzimática das fosfatases ácidas e alcalinas que as dosagens de adubação fosfatada, e presença e ausência da inoculação não tiveram impacto significativo nas fosfatases no primeiro ano, assim como a interação entre a adubação fosfatada e inoculação. Já no segundo ano, somente as dosagens de adubação fosfatada apresentaram diferença significativa na atividade da fosfatase alcalina (Figura 22).

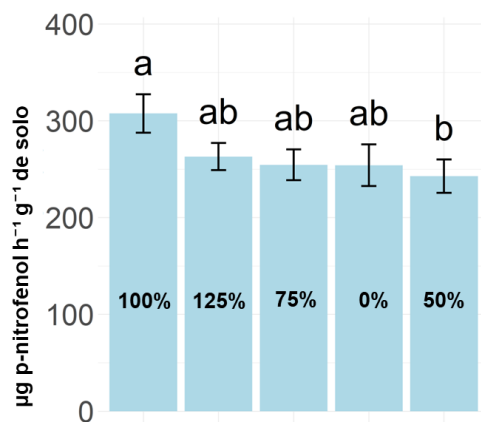


Figura 22. Atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina do solo rizosférico de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. **A e C:** Fosfatase Ácida, **B e D:** Fosfatase Alcalina. **A e B:** safra – 2021, **C e D:** safra – 2022.

5.2.6 EFEITO DOS TRATAMENTOS NA ARQUITETURA RADICULAR DO MILHO, ASSOCIADO A PRODUTIVIDADE, DIVERSIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA, COLONIZAÇÃO MICORRIZICA E ATIVIDADE ENZIMÁTICA

No primeiro ano foi observado uma alta correlação positiva entre a AREA e LT_AVG_DIA, também observamos correlação entre ANG_TOP e WIDTH_MED. O índice de diversidade de Shannon apresentou correlação positiva com a fosfatase alcalina. Observamos correlação negativa entre o D10 e ANG_TOP assim como correlação negativa da colonização micorrízica com a fosfatase ácida (Figura 23).

No segundo ano foi observada uma alta correlação positiva entre a produtividade, AREA e WIDTH_MED. A AREA apresentou alta correlação positiva com WIDTH_MED e SKL_DEPTH. Já LT_AVG_DIA apresentou correlação positiva com SKL_DEPTH. Observamos ANG_TOP apresentou correlação negativa com D10 (Figura 23).

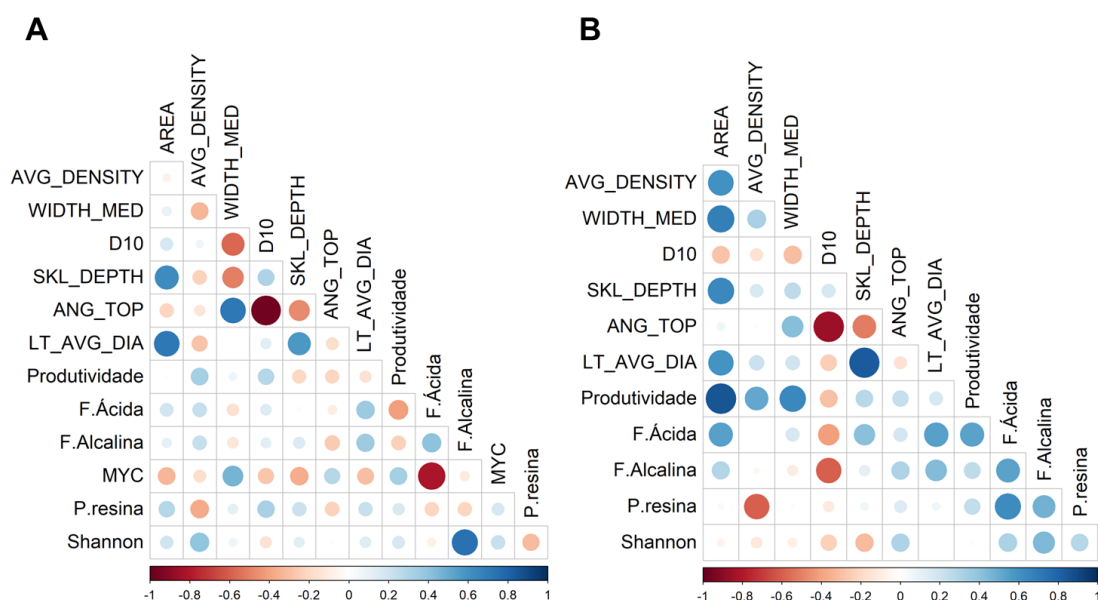


Figura 23. Correlação linear de Pearson das características da arquitetura do sistema radicular (ASR) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022 e 2022/2023. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, Produtividade, F. Ácida, F. Alcalina, MYC: Colonização micorrízica Arbuscular, P resina e Shannon: Índice de diversidade de Shannon-Wiener - H'. **A** – Safra 2021, **B** – Safra 2022.

A PCA do primeiro ano o componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2) obtiveram juntos uma explicação de 46,3% para as variáveis,

sendo Ângulo superior da raiz (ANG_TOP) com 16 % a característica com maior contribuição para explicação das variáveis (Tabela 21).

Tabela 21. Contribuição das características da arquitetura do sistema radicular (ASR), Produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina nas safras de 2021/2022 e 2022/2023.

2021/2022			2022/2023		
Característica ASR	Contribuição		Característica ASR	Contribuição	
	PC1	PC2		PC1	PC2
AREA	8,96	1,58	AREA	19,44	5,41
AVG_DENSITY	0,24	13,91	AVG_DENSITY	3,67	8,89
WIDTH_MED	11,30	0,09	WIDTH_MED	8,67	1,45
D10	12,59	5,62	D10	8,01	11,21
SKL_DEPTH	14,57	3,18	SKL_DEPTH	6,65	14,89
ANG_TOP	16,04	2,97	ANG_TOP	2,62	16,81
LT_AVG_DIA	10,19	0,24	LT_AVG_DIA	10,66	3,15
Produtividade	0,62	3,85	Produtividade	15,11	0,68
Fosfatase Ácida	7,17	12,68	Fosfatase Ácida	14,42	2,26
Fosfatase Alcalina	4,88	15,78	Fosfatase Alcalina	7,86	9,82
P resina	12,70	3,66	P resina	2,31	10,57
Shannon	0,52	25,09	Shannon	0,57	14,85
MYC	0,21	11,35			

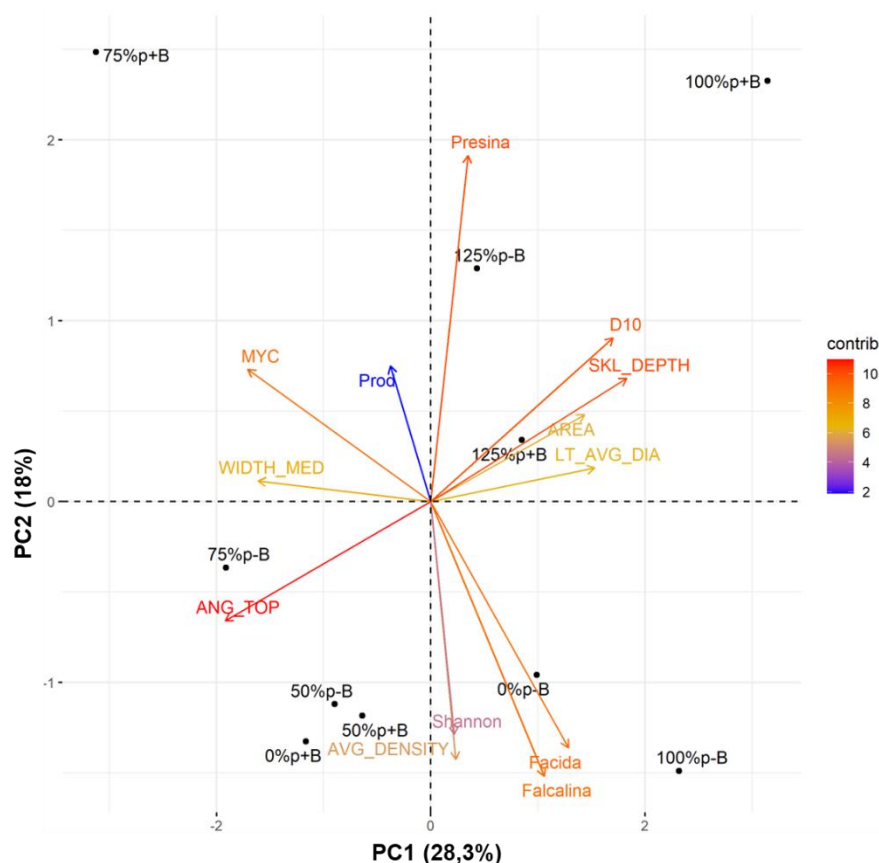


Figura 24. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha⁻¹) nas safras 2021/2022. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina. 0%P-B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 50%P-B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 75%P-B: Dose 75% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 100%P-B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 125%P-B: Dose 125% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 0%P+B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 50%P+B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 75%P+B: Dose 75% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 100%P+B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 125%P+B: Dose 125% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante.

Observamos que os tratamentos os tratamentos com as dosagens menores da adubação 0 e 50% se agruparam nos quadrantes inferiores, já os tratamentos

com dosagens mais altas de 100 e 125% se distribuíram nos quadrantes superiores. A proximidade dos tratamentos com as dosagens de adubação 0 e 50% sugerindo a ausência de diferenças tão marcantes entre os tratamentos ao contrário dos tratamentos com maiores doses que apresenta distribuição mais espaçada (Figura 24).

Os tratamentos com doses 0 e 50% da adubação fosfatada com inoculação tiveram forte relação com ANG_TOP, AVG_DENSITY e índice de diversidade, assim como os tratamentos com 50 e 75% da adubação sem inoculação. Já o tratamento com 0% da adubação sem inoculação teve forte associação com a atividade enzimática das fosfatase ácida e alcalina. O tratamento com dose 125% da adubação com inoculação teve forte associação com SKL_DEPTH, AREA, LT_AVG_DIA, além de apresentar os maiores valores de D10, já o tratamento com dose 125% da adubação sem inoculação teve forte associação com P resina. Os maiores valores para produtividade foram observados na dose 75% da adubação com inoculação (Figura 24).

Na PCA do segundo ano o componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2) obtiveram juntos uma explicação de 57,5,3% para as variáveis, sendo Área de raiz projetada (AREA) com 19,4 % a característica com maior contribuição para explicação das variáveis (Tabela 21).

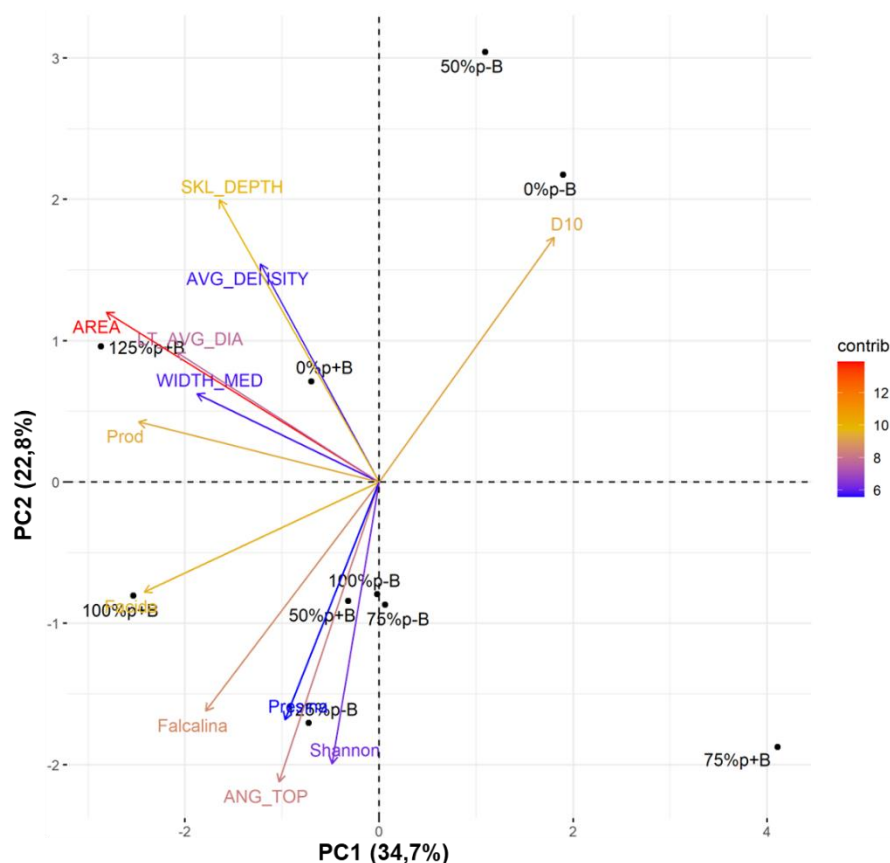


Figura 25. Análise de componentes principais (PCA) de milho inoculado e não inoculado cultivado com diferentes doses da adubação (0, 50, 75, 100, 125 kg ha⁻¹) nas safras 2022/2023. AREA: Área de raiz projetada, AVG_DENSITY: Densidade média da raiz, WIDTH_MED: Largura média do sistema radicular, D10: Largura acumulada em 10% da profundidade, SKL_DEPTH: Profundidade do enraizamento do esqueleto, ANG_TOP: Ângulo superior da raiz, LT_AVG_DIA: Diâmetro médio das raízes laterais, produtividade, colonização micorrízica, índice de diversidade de Shannon-Wiener - H', P resina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina. 0%P-B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 50%P-B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 75%P-B: Dose 75% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 100%P-B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 125%P-B: Dose 125% kg P₂O₅ ha⁻¹, sem Bioinoculante, 0%P+B: Dose 0% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 50%P+B: Dose 50% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 75%P+B: Dose 75% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 100%P+B: Dose 100% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante, 125%P+B: Dose 125% kg P₂O₅ ha⁻¹, com Bioinoculante.

Os tratamentos com 75, 100 e 125% da adubação fosfatada sem inoculação ficam agrupados nos quadrantes inferiores próximos ao tratamento com 50% da

adubação fosfatada com inoculação, estes tratamentos tiveram forte relação com índices de diversidade, ANG_TOP e a atividade enzimática da fosfatases alcalina. A proximidade entre esses tratamentos sugere que não houve diferenças tão expressivas, indicando que a dose de 50% da adubação associada à inoculação apresentou efeitos semelhantes aos das doses mais altas de adubação sem a inoculação. O tratamento com 100% da adubação fosfatada com inoculação teve forte associação com a atividade da fosfatase ácida, já os tratamentos com 0 e 125% da adubação fosfatada com inoculação tiveram forte associação com a AREA, WIDTH_MED, LT_ANG_AVG, AVG_DENSITY e SKL_DEPTH, tendo o tratamento com 125% da adubação fosfatada com inoculação os maiores valores para a AREA e produtividade. Os tratamentos com 0 e 50 % da adubação fosfatada tiveram os maiores valores para D10 (Figura 25).

6.2 DISCUSSÃO

Embora a inoculação e a adubação não tenham apresentado efeitos estatisticamente significativos sobre a produtividade de grãos (Tabelas 13 e 14), foi observado um incremento nos valores médios de produtividade nas plantas inoculadas durante a segunda safra, além de um aumento geral na produtividade nesta mesma safra. Paralelamente, observou-se uma elevação nos teores de fósforo disponível (Tabela 14), o que pode sugerir um efeito cumulativo da inoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato (BSFs) ao longo do tempo. A análise química do solo na área experimental revelou elevados teores de fósforo, um fator importante a ser considerado na interpretação dos resultados.

A disponibilidade de fósforo no solo é um fator determinante para a produtividade, e os maiores teores de P resina foram registrados nos tratamentos sem inoculação em ambas as safras (Tabela 14). Este resultado pode indicar uma maior eficiência de absorção de fósforo pelas plantas nos tratamentos com inoculação, possivelmente devido à intensificação da ciclagem e mineralização promovidas pelas BSFs, o que poderia reduzir a fração disponível de fósforo no solo. Esse comportamento estaria em consonância com os maiores índices de produtividade observados na segunda safra, sugerindo que a maior disponibilidade e absorção de fósforo contribuíram diretamente para o desempenho produtivo. Em culturas de cereais, parte significativa do fósforo absorvido é direcionada às sementes, influenciando diretamente o número, a massa seca e o rendimento das mesmas (Malhotra et al., 2018).

Adicionalmente, esse efeito pode refletir uma maior eficiência e estabilidade funcional das BSFs ao longo do tempo. A atuação dessas bactérias não apenas favorece a ciclagem do fósforo, mas também pode melhorar a disponibilidade de outros nutrientes essenciais. Segundo a Lei do Mínimo de Liebig (1841), a produtividade vegetal é limitada pelo nutriente em menor disponibilidade, independentemente da abundância dos demais. Dessa forma, a melhoria na ciclagem de múltiplos nutrientes pode ter contribuído para o incremento da produtividade observado na segunda safra. Mesmo em condições de alta saturação de fósforo, a inoculação com BSFs pode ter promovido ganhos produtivos não

apenas pela solubilização de fosfato, mas também por efeitos indiretos sobre o desenvolvimento radicular, como evidenciado pelas características da ASR.

As plantas inoculadas apresentaram maior área e ângulo superior de raízes em ambas as safras (Tabela 16), indicando maior robustez e desenvolvimento do sistema radicular. Este efeito pode ser atribuído à capacidade fitoestimuladora das bactérias solubilizadoras de fosfato (BSFs), que produzem fitormônios como auxinas e giberelinas, promotores reconhecidos do crescimento radicular (Velloso et al., 2020; Sousa et al., 2021). No segundo ano, observou-se um impacto significativo da inoculação na profundidade das raízes (Tabela 16), com maiores valores registrados nas plantas não inoculadas. Este resultado pode refletir uma resposta adaptativa das plantas à menor disponibilidade de nutrientes e água, exigindo maior exploração do solo em profundidade. Em contraste, as plantas inoculadas, beneficiadas por uma melhor ciclagem e disponibilidade de fósforo e outros nutrientes, não demandaram o mesmo investimento em crescimento radicular.

Além disso, os maiores valores médios das características da área superficial de raízes (ASR) na segunda safra (Tabela 16) indicam não apenas maior tamanho e robustez radicular, mas também uma possível influência sobre a diversidade da comunidade bacteriana rizosférica. As raízes, por meio da produção de exsudatos, estabelecem um ambiente propício à colonização microbiana, atuando como fonte de carbono e sinais químicos (Dennis et al., 2010). Assim, raízes mais desenvolvidas aumentam a superfície de contato com o solo e ampliam a disponibilidade de exsudatos, favorecendo a atração e a diversidade de microrganismos. As variações na arquitetura do sistema radicular e na resposta à inoculação também podem refletir a plasticidade fenotípica da cultura, influenciada por fatores como genótipo, status nutricional e intensidade da colonização microbiana residente.

As BSFs podem ter se estabelecido de forma mais eficaz no solo ao longo do tempo, aumentando sua eficiência funcional. Tal comportamento pode estar relacionado ao potencial de resiliência da comunidade microbiana, isto é, sua capacidade de retornar ao estado de equilíbrio após perturbações (Ambrosine et al., 2016). Esse potencial está associado à plasticidade funcional e fisiológica, que

confere adaptabilidade a variações ambientais (Shade et al., 2012). A estabilização funcional das BSFs inoculadas ao longo do tempo pode ter contribuído para o aumento da diversidade microbiana. Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos quanto à diversidade nas duas safras (Tabelas 18), com valores similares para os índices de Shannon, Simpson e Chao, a segunda safra apresentou maior diversidade nos tratamentos com inoculação. Esse aumento pode estar relacionado à adaptação e à eficiência crescente das BSFs no ambiente rizosférico, promovendo condições mais favoráveis ao estabelecimento de uma microbiota diversificada.

A literatura relata efeitos diversos da inoculação de microrganismos exógenos sobre a diversidade microbiana do solo. Trabelsi et al. (2011) observaram aumento na riqueza bacteriana total após a inoculação de *Sinorhizobium meliloti* 4H41 e *Rhizobium gallicum* 8a3 em feijão, enquanto Zhang et al. (2010) relataram redução da diversidade bacteriana em favas (*Vicia faba* L.) após a introdução de *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae CCBAU01253, ao mesmo tempo em estudo recente Li et al. (2023) descreveu efeito positivo do uso de inoculantes microbianos no aumento significativamente de vários parâmetros microbianos do solo, incluindo biomassa bacteriana e fúngica.

Tais discrepâncias podem ser atribuídas à resistência das comunidades microbianas residentes à introdução de cepas exógenas (Björklöf et al., 2003), um fenômeno relacionado à diversidade e à capacidade de resposta funcional do microbioma (Allison, 2004; Downing & Leibold, 2010; Ambrosine et al., 2016). Essa resistência e resiliência ecológica estão intimamente ligadas à plasticidade funcional, essencial para a adaptação frente a perturbações ambientais (Shade et al., 2012).

Embora não tenham sido observadas diferenças significativas nos índices de diversidade da comunidade bacteriana rizosférica em resposta à inoculação e à adubação fosfatada (Tabela 18), verificaram-se alterações significativas na composição da comunidade bacteriana em ambas as safras, atribuídas aos efeitos isolados da inoculação, da adubação, e especialmente à interação entre ambos (Figuras 17 e 18). Esses resultados indicam que tanto a inoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato (BSFs) quanto a adubação fosfatada desempenham

papéis relevantes na modulação da composição da comunidade bacteriana, ainda que essas mudanças composicionais não se traduzam necessariamente em variações nos índices de diversidade.

De modo semelhante, observou-se modulação na composição genética da comunidade de FMA devido aos efeitos principais da inoculação e da adubação, bem como à interação entre ambos, porém apenas na primeira safra (Figuras 20 e 21). Tal resposta sugere um efeito sinérgico inicial da inoculação de BSFs com a adubação sobre a comunidade de FMA, seguido de uma possível estabilização ecológica no segundo ano, potencialmente resultante de uma reorganização funcional da microbiota rizosférica frente à introdução de microrganismos exógenos.

A colonização micorrízica foi significativamente influenciada pela adubação, com destaque para a dose de 75% da adubação recomendada, que promoveu maior colonização (Tabela 19 e 20) e esteve associada aos maiores valores de produtividade. Esses achados sugerem que doses intermediárias de adubação equilibram de forma mais eficiente o fornecimento de nutrientes com a promoção da simbiose micorrízica.

A maior atividade enzimática foi inicialmente observada nas plantas não inoculadas o que pode ser explicado pelo princípio de prioridade competitiva da comunidade microbiana nativa frente à introdução de microrganismos exógenos (Debray et al., 2022). Isso sugere que, num primeiro momento, a comunidade nativa possui maior plasticidade funcional e competitiva. Contudo, no segundo ano, houve aumento significativo da atividade enzimática nas plantas inoculadas, indicando que as BSFs conseguiram se estabelecer de forma mais eficiente ao longo do tempo, favorecendo a ciclagem e mineralização do fósforo no solo. Esse efeito foi corroborado pela correlação positiva observada entre a atividade das fosfatases (ácida e alcalina) e o índice de diversidade de Shannon. Destaca-se que, enquanto a fosfatase ácida pode ser produzida por plantas e microrganismos, a fosfatase alcalina é produzida majoritariamente por microrganismos (Carneiro et al., 2004). Assim, os efeitos significativos observados no segundo ano, especialmente associados à adubação, refletem uma maior estabilidade funcional da comunidade microbiana, reforçando o papel das BSFs na melhoria da funcionalidade do solo.

No primeiro ano, a diversidade bacteriana correlacionou-se fortemente com a densidade radicular (Figura 24), indicando que raízes mais densas favorecem maior interação com a microbiota por meio da exsudação. No segundo ano, a diversidade correlacionou-se ao ângulo radicular (Figura 25), sugerindo que raízes com maior exploração vertical aumentam a diversidade ao acessar camadas mais profundas do solo, onde há menor competição e maior variedade de nichos ecológicos.

Apesar do alto teor inicial de fósforo no solo, a inoculação com BSFs mostrou efeitos cumulativos positivos ao longo do tempo, com reflexos no desenvolvimento radicular, atividade enzimática e produtividade, particularmente na segunda safra. Isso reforça a hipótese de que a inoculação contribui para a eficiência na ciclagem de nutrientes, mesmo em solos com boa disponibilidade inicial.

Os maiores valores médios para as características da ASR no segundo ano (Tabela 15), juntamente com a forte correlação positiva entre produtividade, área e largura do sistema radicular (Figuras 24 e 25), sugerem que o melhor estabelecimento das BSFs promoveu maior robustez radicular, otimizando a absorção de água e nutrientes, fatores essenciais para o aumento da biomassa e do rendimento de grãos (Fageria, 2012). Adicionalmente, foi observada correlação positiva entre colonização micorrízica e produtividade na primeira safra (Figuras 24), destacando o papel das FMA como promotores de produtividade em sistemas agrícolas, como também reportado em meta-análise por Zhang et al. (2019), que encontrou aumento médio de 16% na produtividade em experimentos de campo com FMA.

Os resultados deste estudo evidenciam o potencial agrônomo e ecológico da inoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato (BSFs), especialmente quando associada a doses intermediárias de adubação fosfatada. Ainda que efeitos estatisticamente significativos sobre a produtividade nem sempre tenham sido observados, destaca-se a ocorrência de ganhos cumulativos ao longo das safras, refletidos em melhorias na arquitetura do sistema radicular (ASR), na atividade enzimática e na modulação da composição das comunidades microbianas e micorrízicas.

A atuação das BSFs foi evidenciada tanto por seus efeitos diretos, como o aumento na área e robustez das raízes, quanto por seus efeitos indiretos sobre a diversidade microbiana e a eficiência da ciclagem de fósforo, mesmo em solos com elevados teores iniciais do nutriente. Adicionalmente, os dados indicam que estratégias que integram inoculação microbiana com adubação racional (particularmente a 50% ou 75% da dose recomendada) promovem sistemas mais equilibrados, sustentáveis e responsivos, com incremento funcional sem necessidade de insumos excessivos.

Por fim, os resultados sustentam a recomendação de práticas agrícolas baseadas em bioinsumos e manejo conservacionista, que considerem o tempo de estabilização ecológica dos microrganismos introduzidos e priorizem a resiliência e diversidade das comunidades edáficas como pilares para o sucesso agrônômico de longo prazo.

CONCLUSÃO GERAL

Com base nos experimentos conduzidos nos estados de Mato Grosso do Sul (MS) e Tocantins (TO), conclui-se que a escolha do sistema de manejo do solo é um fator determinante para a produtividade e a funcionalidade edáfica. Sistemas conservacionistas, como o Sistema Plantio Direto (SPD), demonstraram promover benefícios agronômicos e biológicos significativos, refletidos na arquitetura do sistema radicular, na colonização micorrízica, na composição da comunidade microbiana rizosférica e no rendimento das culturas.

A inoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato (BSFs) apresentou efeitos consistentes sobre o desenvolvimento radicular em ambos os locais, favorecendo a formação de sistemas radiculares mais robustos e bem estruturados. Observou-se ainda um efeito sinérgico entre a inoculação e a adubação fosfatada, modulando a composição da microbiota do solo. No entanto, essa modulação composicional não se traduziu, necessariamente, em aumentos nos índices clássicos de diversidade microbiana.

No Tocantins, os resultados sugerem uma maior estabilidade funcional das BSFs ao longo do tempo, com respostas mais evidentes na segunda safra. Esse comportamento destaca a importância da adaptação ecológica gradual dos microrganismos exógenos ao ambiente rizosférico e sua contribuição para o funcionamento do solo em médio prazo. Embora os efeitos mais evidentes tenham surgido na segunda safra, seria relevante destacar que o tempo necessário para que as bactérias solubilizadoras de fosfato (BSFs) se estabeleçam e exerçam influência funcional pode variar. Esse período de adaptação é influenciado pela microbiota residente, pelas características físico-químicas do solo e pelas condições climáticas, e merece ser considerado em futuras estratégias de inoculação. Estudos de metagenômica temporal poderiam elucidar esse processo dinâmico.

Os achados deste estudo ampliam o entendimento das complexas interações entre solo, planta e microbiota, e evidenciam o potencial da inoculação com BSFs como ferramenta biotecnológica complementar para o manejo sustentável da fertilidade. No entanto, recomenda-se a realização de estudos de

longa duração, com enfoque na persistência e funcionalidade dos inoculantes, para subsidiar estratégias mais precisas e eficazes para diferentes contextos edafoclimáticos e genótipos de milho.

Na prática, os resultados sugerem que a inoculação com BSFs, especialmente quando associada a doses intermediárias de fósforo, pode reduzir a dependência de fertilizantes minerais e melhorar o aproveitamento dos nutrientes já presentes no solo. Essa estratégia não apenas potencializa o rendimento das lavouras de milho, como também contribui para um manejo mais racional, econômico e ambientalmente sustentável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADNAN, Muhammad et al. 12. Integrated application of phosphorus (P) and phosphate solubilizing bacteria (PSB) improve maize yield. *Pure and Applied Biology (PAB)*, v. 7, n. 2, p. 494-499, 2018.
- ARIF, Inessa; BATOOL, Maria; SCHENK, Peer M. Plant microbiome engineering: expected benefits for improved crop growth and resilience. *Trends in Biotechnology*, v. 38, n. 12, p. 1385-1396, 2020.
- ALAM, Fakhre et al. Phosphate solubilizing bacteria optimize wheat yield in mineral phosphorus applied alkaline soil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, v. 21, n. 5, p. 339-348, 2022.
- ALONI, Roni et al. Role of auxin in regulating Arabidopsis flower development. *Planta*, v. 223, n. 2, p. 315-328, 2006.
- AMBROSINI, Adriana; DE SOUZA, Rocheli; PASSAGLIA, Luciane MP. Ecological role of bacterial inoculants and their potential impact on soil microbial diversity. *Plant and Soil*, v. 400, p. 193-207, 2016.
- AHMED, N.; SHAHAB, S. Phosphate solubilization: their mechanism genetics and application. *Internet J Microbiol*, v. 9, n. 1, 2009.
- ALLISON, Gary. The influence of species diversity and stress intensity on community resistance and resilience. *Ecological Monographs*, v. 74, n. 1, p. 117-134, 2004.
- ANPII (2024). Estatísticas 2023. Disponível em: < <https://www.anpii.org.br/estatisticas/> > Acesso em 12 de novembro de 2024.
- BASHAN, Yoav et al. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 5, p. 1938-1945, 1995.
- BEADLE, George W. The ancestry of corn. *Scientific American*, v. 242, n. 1, p. 112-119, 1980.
- BELTRAN-MEDINA, Isidro et al. Inoculation of phosphate-solubilizing bacteria improves soil phosphorus mobilization and maize productivity. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v. 126, n. 1, p. 21-34, 2023.
- BILLAH, Motsim et al. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiology Journal*, v. 36, n. 10, p. 904-916, 2019.
- BINDRABAN, Prem S.; DIMKPA, Christian O.; PANDEY, Renu. Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health. *Biology and Fertility of Soils*, v. 56, n. 3, p. 299-317, 2020.
- BIOMA. (2020). Biomaphos. Disponível em: <<https://www.bioma.ind.br>>. Acesso em 31 de janeiro de 2022.
- BJÖRKLÖF, K.; SEN, R.; JØRGENSEN, K. S. Maintenance and impacts of an inoculated mer/luc-tagged *Pseudomonas fluorescens* on microbial communities in birch

- rhizospheres developed on humus and peat. *Microbial ecology*, v. 45, p. 39-52, 2003.
- BUCKSCH, Alexander et al. Image-based high-throughput field phenotyping of crop roots. *Plant Physiology*, v. 166, n. 2, p. 470-486, 2014.
- CAMPOLINO, Mariana Lourenço et al. Phosphate fertilization affects rhizosphere microbiome of maize and sorghum genotypes. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 53, n. 3, p. 1371-1383, 2022.
- CARNEIRO, Roberto Guimarães et al. Soil biological indicators associated to the phosphorus cycle in a Cerrado soil under no-till and conventional tillage systems. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, p. 661-669, 2004.
- CARRILLO, Angel E.; LI, Ching Y.; BASHAN, Yoav. Increased acidification in the rhizosphere of cactus seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Naturwissenschaften*, v. 89, p. 428-432, 2002.
- CHAO, Anne; BUNGE, John. Estimating the number of species in a stochastic abundance model. *Biometrics*, v. 58, n. 3, p. 531-539, 2002.
- CHEN, La et al. Effects of growth promoting rhizobacteria on maize growth and rhizosphere microbial community under conservation tillage in Northeast China. *Microbial Biotechnology*, v. 14, n. 2, p. 535-550, 2021.
- CHHABRA, Sagar et al. Fertilization management affects the alkaline phosphatase bacterial community in barley rhizosphere soil. *Biology and Fertility of Soils*, v. 49, p. 31-39, 2013.
- CONAB. (2024). Boletim da Safra de Grãos. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em 12 de novembro de 2024.
- CULMAN, Steven W. et al. T-REX: software for the processing and analysis of T-RFLP data. *BMC bioinformatics*, v. 10, p. 1-10, 2009.
- DAI, Zhongmin et al. Long-term nutrient inputs shift soil microbial functional profiles of phosphorus cycling in diverse agroecosystems. *The ISME journal*, v. 14, n. 3, p. 757-770, 2020.
- DAS, Abhiram et al. Digital imaging of root traits (DIRT): a high-throughput computing and collaboration platform for field-based root phenomics. *Plant methods*, v. 11, p. 1-12, 2015.
- DA SILVA, Davi Francisco et al. Características morfológicas, melhoramento genético e densidade de plantio das culturas do sorgo e do milho: uma revisão. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 3, p. e12310313172-e12310313172, 2021.
- DE MEESTER, Luc et al. Evolving perspectives on monopolization and priority effects. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 31, n. 2, p. 136-146, 2016.
- DE OLIVEIRA MENDES, Gilberto et al. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. *Annals of microbiology*, v. 64, p. 239-249, 2014.

- DEBRAY, Reena et al. Priority effects in microbiome assembly. *Nature Reviews Microbiology*, v. 20, n. 2, p. 109-121, 2022.
- DENNIS, Paul G.; MILLER, Anthony J.; HIRSCH, Penny R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS microbiology ecology*, v. 72, n. 3, p. 313-327, 2010.
- DOS SANTOS, Humberto Gonçalves et al. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília, DF: Embrapa, 2018., 2018.
- DOWNING, Amy L.; LEIBOLD, Mathew A. Species richness facilitates ecosystem resilience in aquatic food webs. *Freshwater Biology*, v. 55, n. 10, p. 2123-2137, 2010.
- ELHAISSOUFI, Wissal et al. Phosphate bacterial solubilization: a key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. *Journal of Advanced Research*, v. 38, p. 13-28, 2022.
- EMBRAPA (2024). Johanna-Dobereiner. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/johanna-dobereiner/quem-foi>> Acesso em 12 de novembro de 2024.
- FADIJI, Ayomide Emmanuel; KANU, Jerry Onyemaechi; BABALOLA, Olubukola Oluranti. Metagenomic profiling of rhizosphere microbial community structure and diversity associated with maize plant as affected by cropping systems. *International Microbiology*, v. 24, n. 3, p. 325-335, 2021.
- FAGERIA, Nand Kumar. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. *Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental*, v. 2, n. 1, p. 6-16, 1998.
- FAGERIA, Nand Kumar. *The role of plant roots in crop production*. CRC Press, 2012.
- FENG, Y. et al. Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 35, n. 12, p. 1693-1703, 2003.
- FERRAREZI, Jessica Aparecida et al. Meta-omics integration approach reveals the effect of soil native microbiome diversity in the performance of inoculant *Azospirillum brasilense*. *Frontiers in Plant Science*, v. 14, p. 1172839, 2023.
- FETTING, Constanze. The European green deal. *ESDN Report*, December, v. 2, n. 9, 2020.
- FORSEED. (2025). Portifólio de produtos FS615PWU. Disponível em: <<https://www.forseedsementes.com.br/portfolio/produtos/fs615/>>. Acesso em 16 de maio de 2025.
- FREDRIKSSON, Nils Johan; HERMANSSON, Malte; WILÉN, Britt-Marie. Tools for T-RFLP data analysis using Excel. *BMC bioinformatics*, v. 15, p. 1-18, 2014.
- GARCÍA-LARA, Silverio; SERNA-SALDIVAR, Sergio O. Corn history and culture. *Corn*, p. 1-18, 2019.

- GERKE, Jörg. Phosphate, aluminium and iron in the soil solution of three different soils in relation to varying concentrations of citric acid. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, v. 155, n. 4, p. 339-343, 1992.
- GLICK, Bernard R. et al. *Beneficial plant-bacterial interactions*. Heidelberg: Springer, 2015.
- GODFRAY, H. Charles J. et al. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *science*, v. 327, n. 5967, p. 812-818, 2010.
- GOLLOTTE, Armelle; VAN TUINEN, Diederik; ATKINSON, David. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. *Mycorrhiza*, v. 14, n. 2, p. 111-117, 2004.
- GOUDA, Sushanto et al. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological research*, v. 206, p. 131-140, 2018.
- HAMMER, Øyvind; HARPER, David AT. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, v. 4, n. 1, p. 1, 2001.
- HAOKIP, Immanuel C. et al. Effect of phosphorus fertilization and microbial inoculants on yield, phosphorus use-efficiency and available phosphorus in maize (*Zea mays*)-wheat (*Triticum aestivum*) cropping system. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, v. 89, n. 5, p. 806-12, 2019.
- HINSINGER, Philippe et al. *Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance*. 2009.
- HOBBS, Peter R.; SAYRE, Ken; GUPTA, Raj. The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 363, n. 1491, p. 543-555, 2008.
- HOU, Enqing et al. Effects of climate on soil phosphorus cycle and availability in natural terrestrial ecosystems. *Global change biology*, v. 24, n. 8, p. 3344-3356, 2018.
- HUNGRIA, Mariangela et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and soil*, v. 331, p. 413-425, 2010.
- HUSSAIN, Akif et al. 78. Combining phosphorus (P) with phosphate solubilizing bacteria (PSB) improved wheat yield and P uptake in alkaline soil. *Pure and Applied Biology (PAB)*, v. 8, n. 2, p. 1809-1817, 2019.
- JARARWEH, Yaser et al. Smart and sustainable agriculture: Fundamentals, enabling technologies, and future directions. *Computers and Electrical Engineering*, v. 110, p. 108799, 2023.
- KASSAM, Amir; DERPSCH, Rolf; FRIEDRICH, Theodor. Global achievements in soil and water conservation: The case of Conservation Agriculture. *International Soil and Water Conservation Research*, v. 2, n. 1, p. 5-13, 2014.
- KHAN, Mohammad Saghir; ZAIDI, Almas; WANI, Parvaze A. Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture-a review. *Sustainable agriculture*, p. 551-570, 2009.

- KHAN, Naeem et al. Comparative physiological and metabolic analysis reveals a complex mechanism involved in drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) induced by PGPR and PGRs. Scientific reports, v. 9, n. 1, p. 2097, 2019.
- KLEIN, Claudia; AGNE, Sandra Aparecida Antonini. Fósforo: de nutriente à poluente. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, v. 8, n. 8, p. 1713-1721, 2012.
- LAMONTAGNE, M. G. et al. Evaluation of extraction and purification methods for obtaining PCR-amplifiable DNA from compost for microbial community analysis. Journal of Microbiological Methods, v. 49, n. 3, p. 255-264, 2002.
- LI, Yüze et al. Effect of no-tillage on soil bacterial and fungal community diversity: A meta-analysis. Soil and Tillage Research, v. 204, p. 104721, 2020.
- LI, Chong et al. Meta-analysis reveals the effects of microbial inoculants on the biomass and diversity of soil microbial communities. Nature Ecology & Evolution, v. 8, n. 7, p. 1270-1284, 2024.
- LIU, Wen-Tso et al. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. Applied and environmental microbiology, v. 63, n. 11, p. 4516-4522, 1997.
- LIU, Xuewei et al. Historic trends and future prospects of waste generation and recycling in China's phosphorus cycle. Environmental science & technology, v. 54, n. 8, p. 5131-5139, 2020.
- LIU, Hang et al. Response of soil microbial community structure to phosphate fertilizer reduction and combinations of microbial fertilizer. Frontiers in Environmental Science, v. 10, p. 899727, 2022.
- LIU, Qing et al. Changes in soil microbial biomass, diversity, and activity with crop rotation in cropping systems: A global synthesis. Applied Soil Ecology, v. 186, p. 104815, 2023.
- LÓPEZ-ARREDONDO, Damar Lizbeth et al. Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops. Annual review of plant biology, v. 65, n. 1, p. 95-123, 2014.
- MALHOTRA, Hina et al. Phosphorus nutrition: plant growth in response to deficiency and excess. Plant nutrients and abiotic stress tolerance, p. 171-190, 2018.
- MAPA (2024). Exportações Brasileiras Milho. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/relacoes-internacionais/documentos/Milho.pdf>>. Acesso em 12 de novembro de 2024.
- MARTINEZ, Ernesto Lozano; FERNANDEZ, Francisco Javier Belden. Economics of production, marketing and utilization. In: Corn. AACC International Press, 2019. p. 87-107.
- MATHEW, Reji P. et al. Impact of no-tillage and conventional tillage systems on soil microbial communities. Applied and Environmental Soil Science, v. 2012, n. 1, p. 548620, 2012.

- MEHRA, Promil et al. Changes in soil-pores and wheat root geometry due to strategic tillage in a no-tillage cropping system. *Soil Research*, v. 59, n. 1, p. 83-96, 2020.
- MOGOLLÓN, J. M. et al. Future agricultural phosphorus demand according to the shared socioeconomic pathways. *Global environmental change*, v. 50, p. 149-163, 2018.
- MONDAL, Surajit et al. Conservation agriculture had a strong impact on the sub-surface soil strength and root growth in wheat after a 7-year transition period. *Soil and Tillage Research*, v. 195, p. 104385, 2019.
- MONDAL, SURAJIT et al. Effect of conservation agriculture on soil hydro-physical properties, total and particulate organic carbon and root morphology in wheat (*Triticum aestivum*) under rice (*Oryza sativa*)-wheat system. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, v. 89, n. 1, p. 46-55, 2019.
- NANNIPIERI, Paolo et al. Role of phosphatase enzymes in soil. *Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling*, p. 215-243, 2011.
- NIKKEL, Marcio; DE OLIVEIRA LIMA, Saulo. Growth and vegetative development of soybean plants in soil type concretionary petric plinthosol. *Scientia Agraria Paranaensis*, p. 351-356, 2019.
- NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. Fósforo em solo e planta em condições tropicais Viçosa. MG: UFV, 1999.
- OLIVEIRA-PAIVA, C. A. et al. Viabilidade técnica e econômica do Biomaphos® (*Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119) nas culturas de milho e soja. 2020.
- ONODERA, Shinichi et al. Phosphorus cycling in watersheds: from limnology to environmental science. *Limnology*, v. 21, p. 327-328, 2020.
- PANTIGOSO, Hugo A.; NEWBERGER, Derek; VIVANCO, Jorge M. The rhizosphere microbiome: Plant-microbial interactions for resource acquisition. *Journal of Applied Microbiology*, v. 133, n. 5, p. 2864-2876, 2022.
- PASZKOWSKI, Uta; JAKOVLEVA, Ludmila; BOLLER, Thomas. Maize mutants affected at distinct stages of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *The Plant Journal*, v. 47, n. 2, p. 165-173, 2006.
- PERRIG, D. et al. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 75, p. 1143-1150, 2007.
- PIONEER. (2025). Portilho de produtos P3551PWU. Disponível em: <<https://www.pioneer.com/br/portfolio-de-produtos/milhotodos/P3551PWU.html>>. Acesso em 16 de maio de 2025.
- PRIYA, P.; ANEESH, B.; HARIKRISHNAN, K. Genomics as a potential tool to unravel the rhizosphere microbiome interactions on plant health. *Journal of Microbiological Methods*, v. 185, p. 106215, 2021.
- RAI, Pankaj K. et al. Role and potential applications of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. In: *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Elsevier, 2020. p. 49-60.

- RAO, NS Subba (Ed.). Advances in agricultural microbiology. Elsevier, 2016.
- REN, Xiaohua et al. Soil properties affect crop yield changes under conservation agriculture: A systematic analysis. *European Journal of Soil Science*, v. 74, n. 5, p. e13413, 2023.
- RICHARDSON, Alan E. et al. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. 2009.
- RICHARDSON, Alan E.; SIMPSON, Richard J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability: phosphorus plant physiology. *Plant Physiology (Bethesda)*, v. 156, n. 3, p. 989-996, 2011.
- RODRÍGUEZ, Hilda; FRAGA, Reynaldo. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, v. 17, n. 4-5, p. 319-339, 1999.
- ROUF SHAH, Tajamul; PRASAD, Kamlesh; KUMAR, Pradyuman. Maize—A potential source of human nutrition and health: A review. *Cogent Food & Agriculture*, v. 2, n. 1, p. 1166995, 2016.
- SAMAIN, Erika et al. PGPR-Soil Microbial Communities' Interactions and Their Influence on Wheat Growth Promotion and Resistance Induction against *Mycosphaerella graminicola*. *Biology*, v. 12, n. 11, p. 1416, 2023.
- SANTOS, Mariana Sanches; NOGUEIRA, Marco Antonio; HUNGRIA, Mariangela. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *Amb Express*, v. 9, n. 1, p. 205, 2019.
- SHADE, Ashley et al. Fundamentals of microbial community resistance and resilience. *Frontiers in microbiology*, v. 3, p. 417, 2012.
- SHAIKH, Narina Banoo et al. Rhizobacteria that promote plant growth and their impact on root system architecture, root development, and function. *Acta Scientific MICROBIOLOGY (ISSN: 2581-3226)*, v. 5, n. 4, 2022.
- SHARMA, Nayana; SINGHVI, Ritu. Effects of chemical fertilizers and pesticides on human health and environment: a review. *International journal of agriculture, environment and biotechnology*, v. 10, n. 6, p. 675-680, 2017.
- SEPLAN. (2024). Atlas do Tocantins. Disponível em: < <https://www.to.gov.br/seplan/atlas-do-tocantins/1asvwxbj530d> > Acesso em 12 de novembro de 2024.
- SIMPON, E. H. Measurement of diversity. *Nature*, v. 688, p. 163, 1949.
- SMITH, Chris R. et al. Microbial community responses to soil tillage and crop rotation in a corn/soybean agroecosystem. *Ecology and Evolution*, v. 6, n. 22, p. 8075-8084, 2016.
- SÖDERBERG, K. H. et al. The microbial community in the rhizosphere determined by community-level physiological profiles (CLPP) and direct soil—and cfu—PLFA techniques. *Applied Soil Ecology*, v. 25, n. 2, p. 135-145, 2004.
- SOMASUNDARAM, J. et al. Corrigendum to: conservation agriculture effects on soil properties and crop productivity in a semiarid region of India. *Soil Research*, v. 57, n. 2, p. 200-200, 2019.

- SØRENSEN, Jan et al. Molecular tools in rhizosphere microbiology—from single-cell to whole-community analysis. 2009.
- SURESHBABU, K.; AMARESAN, N.; KUMAR, K. Amazing multiple function properties of plant growth promoting rhizobacteria in the rhizosphere soil. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, v. 5, n. 2, p. 661-683, 2016.
- TABASSUM, Bushra et al. Bottlenecks in commercialization and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, v. 121, p. 102-117, 2017.
- TABATABAI, M. Ali; BREMNER, John M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil biology and biochemistry*, v. 1, n. 4, p. 301-307, 1969.
- TAMBURINI, Federica et al. Oxygen isotopes unravel the role of microorganisms in phosphate cycling in soils. *Environmental Science & Technology*, v. 46, n. 11, p. 5956-5962, 2012.
- TEAM, R. Core. RA language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical. Computing, 2020.
- TIEDJE, James M. et al. Opening the black box of soil microbial diversity. *Applied soil ecology*, v. 13, n. 2, p. 109-122, 1999.
- TRABELSI, Darine et al. Effect of on-field inoculation of *Phaseolus vulgaris* with rhizobia on soil bacterial communities. *FEMS microbiology ecology*, v. 77, n. 1, p. 211-222, 2011.
- TRABELSI, Darine et al. Fertilization of *Phaseolus vulgaris* with the Tunisian rock phosphate affects richness and structure of rhizosphere bacterial communities. *Applied Soil Ecology*, v. 114, p. 1-8, 2017.
- TRACHSEL, Samuel et al. Shovelomics: high throughput phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root architecture in the field. *Plant and soil*, v. 341, p. 75-87, 2011.
- TROUVELOT, Sophie et al. Visualization of ribosomal DNA loci in spore interphasic nuclei of glomalean fungi by fluorescence in situ hybridization. *Mycorrhiza*, v. 8, p. 203-206, 1999.
- TURAN, Metin et al. Plant root enhancement by plant growth promoting rhizobacteria. *Plant Roots*, v. 2021, 2021.
- TURNER, Sean et al. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis 1. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 46, n. 4, p. 327-338, 1999.
- UniProt: the universal protein knowledgebase in 2023. *Nucleic acids research*, v. 51, n. D1, p. D523-D531, 2023.
- USDA. (2024). Grain and Feed Annual. Disponível em: < <https://usdabrazil.org.br/> > Acesso em 12 de novembro de 2024.
- VALLADARES, Gustavo Souza; PEREIRA, Marcos Gervasio; ANJOS, Lúcia Helena Cunha dos. Phosphate sorption in low activity clay soils. *Bragantia*, v. 62, p. 111-118, 2003.

- VAN TUINEN, Diederik; ZHAO, Bojuan; GIANINAZZI-PEARSON, Vivienne. PCR in studies of AM fungi: from primers to application. In: Mycorrhiza manual. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1998. p. 387-400.
- VILAR, Cesar Crispim et al. Capacidade máxima de adsorção de fósforo relacionada a formas de ferro e alumínio em solos subtropicais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 34, p. 1059-1068, 2010.
- VILAR, Cesar Crispim; VILAR, Flavia Carolina Moreira. Comportamento do fósforo em solo e planta. *Revista Campo Digital*, v. 8, n. 2, 2013.
- VILLEGAS, J.; FORTIN, J. A. Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NO₃-as nitrogen source. *Canadian journal of botany*, v. 80, n. 5, p. 571-576, 2002.
- WANG, Chao; WHITE, Philip J.; LI, Chunjian. Colonization and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in maize roots at different depths in the soil profile respond differently to phosphorus inputs on a long-term experimental site. *Mycorrhiza*, v. 27, p. 369-381, 2017.
- WALIA, Abhishek et al. Endophytic bacteria: role in phosphate solubilization. *Endophytes: Crop Productivity and Protection: Volume 2*, p. 61-93, 2017.
- WANG, Yang et al. No-tillage with straw retention influenced maize root growth morphology by changing soil physical properties and aggregate structure in Northeast China: A ten-year field experiment. *Geoderma Regional*, v. 38, p. e00840, 2024.
- WEAVER, W.; SHANNON, C. E. The mathematical theory of communication University of Illinois Press Urbana. The mathematical theory of communication University of Illinois Press Urbana, 1963.
- WILKES, H. Garrison. Maize and Its Wild Relatives: Teosinte and Tripsacum, wild relatives of maize, figured prominently in the origin of maize. *Science*, v. 177, n. 4054, p. 1071-1077, 1972.
- WHITE, Richard Allen et al. From data to knowledge: the future of multi-omics data analysis for the rhizosphere. *Rhizosphere*, v. 3, p. 222-229, 2017.
- WITHERS, Paul JA et al. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2018.
- XAVIER, Clariana Valadares et al. Crop rotation and succession in a no-tillage system: Implications for CO₂ emission and soil attributes. *Journal of Environmental Management*, v. 245, p. 8-15, 2019.
- YADAV, M. R. et al. Conservation agriculture and soil quality—an overview. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, v. 6, p. 1-28, 2017.
- YANG ZONGZHENG, Yang ZongZheng et al. Effect of *Bacillus subtilis* SY1 on antifungal activity and plant growth. 2009.
- Yue, H. Z., Zhang, D. Q., Hou, D., Li, Y. L., Yao, T., & Huang, S. C. (2022). Effects of partial substitution of chemical fertilizer by microbial fertilizer on yield of cucumber and soil bacterial community structure in greenhouse.

- ZHANG, Nan Nan et al. Effects of intercropping and *Rhizobium* inoculation on yield and rhizosphere bacterial community of faba bean (*Vicia faba* L.). *Biology and Fertility of Soils*, v. 46, p. 625-639, 2010.
- ZHANG, Shujuan et al. Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain yields: a meta-analysis. *New Phytologist*, v. 222, n. 1, p. 543-555, 2019.
- ZHENG, Man Man et al. Changes of acid and alkaline phosphatase activities in long-term chemical fertilization are driven by the similar soil properties and associated microbial community composition in acidic soil. *European Journal of Soil Biology*, v. 104, p. 103312, 2021.