

ARTIGO RECEBIDO: 15/12/2023 – APROVADO: 06/03/2024 - PUBLICADO: 22/04/2024

EFICIÊNCIA DE *Bacillus subtilis* SELECIONADOS PARA CULTURAS NO TOCANTINS: Milho

EFFICIENCY OF Bacillus subtilis SELECTED FOR CROPS IN TOCANTINS: Corn

EFICIENCIA DE Bacillus subtilis SELECCIONADOS PARA CULTIVOS EN TOCANTINS: Maíz

Ana Licia Leão Ferreira¹; Lillian França Borges Chagas^{*2}; Dalilla Moreira de Oliveira Moura³; Leticia Bezerra de Almeida⁴; Aloisio Freitas Chagas Junior⁵

¹ Curso de Agronomia, Campus Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Brasil;

² Curso de Agronomia, Campus Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Brasil;

³ Curso de Agronomia, Campus Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Brasil;

⁴ Curso de Agronomia, Campus Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Brasil;

⁵ Curso de Agronomia, Campus Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Brasil.

*Correspondência: lillianfbc@uft.edu.br

RESUMO

O cultivo de milho (*Zea mays* L.) vem ganhando expressividade no estado do Tocantins. Dados apontam que o estado possui aproximadamente 325 mil hectares de milho. Devido a esses aumentos é necessário a adoção de práticas sustentáveis que visam alavancar esse setor. *Bacillus subtilis* é um gênero de bactérias que se destaca dentre as Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP's) devido as suas capacidades de produzir fitohormônios, e auxiliar na resistência das plantas contra fitopatógenos. No presente trabalho observou-se os efeitos da inoculação de *B. subtilis* sobre duas variedades de milho em casa de vegetação, avaliando os primeiros 20 e 40 dias após emergência. As variáveis analisadas foram: Massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total. Mediante aos dados de biomassa determinou-se a eficiência do isolado de *B. subtilis* de cada tratamento. As avaliações dos tratamentos foram obtidas através do teste F da análise de variação para $p=0,05$. Dos resultados observou-se que o tratamento com *B. subtilis* quanto a eficiência relativa proporcionou um aumento de 52% na primeira avaliação para variedade VA19AVIP3 e de 60% para cultivar DKB335 PRO3. Na segunda avaliação os valores obtidos foram de 43% e 42% em relação a testemunha. Sementes de milho inoculadas com *Bacillus subtilis* resultaram em plantas com maior acúmulo de biomassa.

Palavras-chave: Rizobactérias. Biomassa. *Zea mays* L.

ABSTRACT

Corn (*Zea mays* L.) cultivation has been gaining importance in the state of Tocantins. Data shows that the state has approximately 325 thousand hectares of corn. Due to these increases, it is necessary to adopt sustainable practices that aim to boost this sector. *Bacillus subtilis* is a genus of bacteria that stands out among the Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) due to their ability to produce

phytohormones and assist in plant resistance against phytopathogens. In the present work, the effects of *B. subtilis* inoculation on two varieties of corn in a greenhouse were observed, evaluating the first 20 and 40 days after emergence. The variables analyzed were: Shoot dry mass, root dry mass and total dry mass. Using biomass data, the efficiency of the *B. subtilis* isolate from each treatment was determined. Treatment evaluations were obtained using the F test of analysis of variance for $p=0.05$. From the results it was observed that the treatment with *B. subtilis* in terms of relative efficiency provided an increase of 52% in the first evaluation for variety VA19AVIP3 and 60% for cultivar DKB335 PRO3. In the second evaluation, the values obtained were 43% and 42% in relation to the control. Corn seeds inoculated with *Bacillus subtilis* resulted in plants with greater biomass accumulation.

Keywords: Rhizobacterias. Biomass. *Zea mays* L.

RESUMEN

El cultivo de maíz (*Zea mays* L.) viene ganando importancia en el estado de Tocantins. Los datos muestran que el estado cuenta con aproximadamente 325 mil hectáreas de maíz. Debido a estos incrementos, es necesario adoptar prácticas sustentables que tengan como objetivo impulsar este sector. *Bacillus subtilis* es un género de bacterias que se destaca entre las Rizobacterias Promotoras Del Crecimiento Vegetal (RPCV) debido a su capacidad para producir fitohormonas y ayudar en la resistencia de las plantas contra fitopatógenos. En el presente trabajo se observaron los efectos de la inoculación de *B. subtilis* en dos variedades de maíz en invernadero, evaluando los primeros 20 y 40 días después de la emergencia. Las variables analizadas fueron: Masa seca de brotes, masa seca de raíces y masa seca total. Utilizando datos de biomasa, se determinó la eficiencia del aislado de *B. subtilis* de cada tratamiento. Las evaluaciones de los tratamientos se obtuvieron mediante la prueba F de análisis de varianza para $p=0,05$. De los resultados se observó que el tratamiento con *B. subtilis* en términos de eficiencia relativa proporcionó un incremento del 52% en la primera evaluación para la variedad VA19AVIP3 y del 60% para el cultivar DKB335 PRO3. En la segunda evaluación los valores obtenidos fueron de 43% y 42% con relación al control. Semillas de maíz inoculadas con *Bacillus subtilis* dieron como resultado plantas con mayor acumulación de biomasa.

Descriptor: Rizobacterias. Biomasa. *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

O agronegócio representa uma das principais atividades da economia brasileira e expressa importância na balança comercial do país. O milho (*Zea mays* L.) é o segundo grão de maior cultivo e exportação ficando atrás somente da soja. O país tem aproveitado o crescente aumento da demanda mundial pelo grão e implementado novas tecnologias no plantio e expansão de áreas plantadas (Souza, 2018).

O Estado do Tocantins detém de uma área de produção de grãos de aproximadamente 5,89 milhões de toneladas, destacando-se o cultivo de soja e milho. Na safra de 2021/2022 o estado obteve cerca de 325 mil hectares de milho, alcançando produção de 1,5 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2021). Visando o aumento da produtividade da cultura do milho, é necessário que se obtenha avanços tecnológicos que permitam explorar ao máximo os recursos naturais disponíveis para a produção de forma sustentável. Como alternativa surge os microrganismos promotores de crescimento, que são capazes de forma isolada ou com consórcio de cepas desenvolver o crescimento e o rendimento das plantas (Kumar et al., 2017).

Dos microrganismos importantes tem-se a utilização das Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP's) que através de diferentes processos podem promover o desenvolvimento das plantas (Costa et al 2014). Das suas capacidades, destacam-se a solubilização fosfatos insolúveis, produção sideróforos e sintetização de hormônios (Saxena et al., 2019; Kalam et al., 2020).

Trabalhos voltados para a seleção e o isolamento de cepas de *B. subtilis* nativos são de extrema importância dadas as implicações econômicas do uso desta tecnologia como promotora de crescimento vegetal e controle biológico. A produção de novos inoculantes contendo isolados específicos de *B. subtilis* para cada região de interesse seria de grande valia para importantes culturas no Cerrado. Portanto, estudos relacionados à seleção de *Bacillus subtilis* isolados de solo de Cerrado para preparação de inoculantes utilizando rizobactéria visam orientar o uso desses produtos em culturas de importância econômica no bioma brasileiro.

Nesse sentido, considerando a interação de *B. subtilis* com as plantas, objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência de *Bacillus subtilis* no desenvolvimento da cultura do milho, analisando a promoção de crescimento da cultura e sua capacidade solubilização de fosfato.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local dos experimentos

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins – UFT, campus de Gurupi. As coordenadas geográficas são 11°43'45" S e 49°04'07" W, com altitude média de 280 metros e clima tropical úmido classificado como déficit hídrico moderado (B1wA'a') com vegetação de savana ou savana tropical, de acordo com Köppen-Geiger (Peel et al., 2007).

Identificação e formulação do Bacillus subtilis

Foi utilizado o isolados de *Bacillus subtilis* obtido na coleção do Laboratório de Microbiologia da UFT, Campus de Gurupi. Esse isolado foi coletado de solo de cerrado em áreas de cultivos no Estado do Tocantins, e classificados como *Bacillus subtilis* pelos testes morfológicos, estruturais e bioquímicos seguindo a metodologia do Manual de Bacteriologia Determinativa de Bergey (Slepecky & Hemphill, 2006; Rabinovitch & Oliveira, 2015). Como testemunha positiva foi utilizada a cepa *Bacillus subtilis* UFMT-Pant001 que compõe o produto Panta obtido da empresa Geoclean Nutrição e Proteção Vegetal. Para os experimentos foram utilizados inoculante líquido contendo os *B. subtilis* UFT e *B. subtilis* UFMT-Pant001 com concentração mínima de 1×10^9 UFC mL⁻¹, utilizando-se o meio LB. O inoculante foi mantido em temperatura ambiente no Laboratório de Microbiologia da UFT.

Solubilização de fosfato

Para o teste de solubilização de fosfato os isolados foram inicialmente cultivados em meio LB por três dias. Para o ensaio de solubilização de fosfato utilizou o meio NIBRIP (National Botanical Research Institute) (glicose: 10g, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$: 5g, $MgSO_4$: 0.25g, KCl: 0.2g, $(NH_4)_2SO_4$: 0.1g, ágar: 15g, água destilada: 1L; pH 7.0) contendo fosfato insolúvel (fosfato bicálcico: $CaHPO_4$), o qual foi autoclavado separadamente em 100 mL de solução de K_2HPO_4 a 10% (2.5 g) e 50 mL de solução de $CaCl_2$ a 10% (1.25 g) de acordo com Sylvester-Bradley et al. (1982).

Após esterilização o meio foi vertido em placas de petri e posteriormente a solidificação do mesmo, com ajuda de uma alça de riscagem transferiu-se a massa bacteriana de cada isolado de *B. subtilis* e dispôs esse material em três pontos da placa de petri. O experimento foi realizado em triplicata, e após a instalação as placas foram vedadas e incubadas em BOD a 28-30 °C. As avaliações foram realizadas em um período de oito dias e a cada dois dias mensurou-se os diâmetros do halo de solubilização com auxílio de um paquímetro

Experimento em vasos

Foi realizado um experimento em vasos, com capacidade para 10 L, preenchidos com solo coletado em área de cultivo, apresentando as seguintes características (Tabela 1).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizados (DIC). Foram utilizados três tratamentos, sendo a inoculação de *B. subtilis* UFT, uma testemunha positiva (inoculação do produto comercial Panta) e uma testemunha absoluta sem inoculação com *B. subtilis*. Utilizou-se duas variedades de milho na realização do experimento, sendo elas: VA 19 VIP3 - Dois Marcos e VT PRO 3 - Dekalb. A adubação de base foi realizada conforme a recomendação para a cultura.

A inoculação com os tratamentos com *B. subtilis* foi realizada na cova sobre as sementes no momento da semeadura na dose de 1 mL do inoculante por vaso⁻¹. Em cada vaso foram semeadas seis sementes e após a emergência realizou-se o desbaste deixando duas plantas por vaso.

Realizou-se duas avaliações para cada tratamento, aos 20 e 40 dias após a emergência (DAE). O material coletado foi lavado em água corrente e levado para secar em estufa a 60 °C para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST). Com os dados de biomassa determinou-se a eficiência relativa de cada tratamento, calculada segundo a fórmula: $ER = (MSPA \text{ inoculada com os isolados} / MSPA \text{ sem inoculante}) \times 100$.

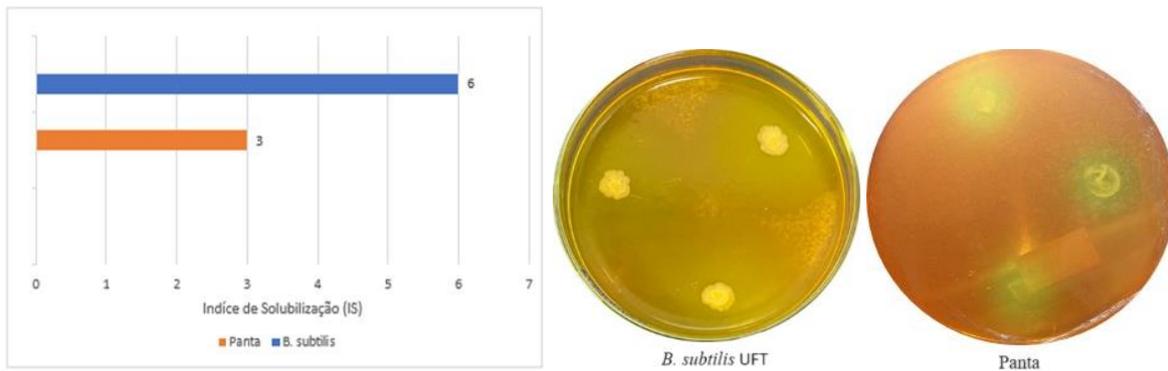
A hipótese da igualdade entre os dois tratamentos avaliados foi realizada pelo teste F da análise de variação para $p = 0,05$ e as médias comparadas pelo teste Tucky, usando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2019).

RESULTADOS

Solubilização de fosfato

Analisando os índices de solubilização (IS) na Figura 1, nota-se que a bactéria *Bacillus subtilis* UFT obteve $IS > 4$, sendo por tanto classificada como uma bactéria de alta solubilização. Com relação ao produto Panta encontrou-se $IS < 4$, classificando-se assim como uma bactéria de média solubilização.

Figura 1 – Índice de solubilização de fosfato de cálcio por *Bacillus subtilis*.



Fonte: Autor

Experimento em vaso

Na tabela 1 são apresentados os resultados referentes à matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST). Para a variedade VA19VIP3, aos 20 dias após a emergência (DAE) os tratamentos com *B. subtilis* UFT e o produto Panta foram superiores ($p < 0,05$) a testemunha. Entretanto quando comparamos a inoculação de *B. subtilis* e Panta, observamos que os resultados obtidos nas variáveis respostas não diferem significativamente ($p < 0,05$). Para a variedade VTPRO3Dekalb, para MSPA e MST observa-se que a utilização de *B. subtilis* UFT demonstrou-se superior ($p < 0,05$) a testemunha, porém não diferindo do produto Panta. Com relação a variável MSR pode-se perceber que o produto Panta obteve maior resultados, e a inoculação com *B. subtilis* não diferiu significativamente da testemunha ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Aos 40 DAE, pode-se notar que na cultivar VA19VIP3 a utilização de *B. subtilis* e Panta apresentaram valores superiores ($p < 0,05$) para a MSPA. Já com relação as variáveis MSR e MST, o tratamento com *B. subtilis* UFT foi superior ($p < 0,05$) ao tratamento com Panta e testemunha. Para a variedade VTPRO3Dekalb, observa-se que para MSPA e MST, *B. subtilis* e Panta não diferiram entre si, mas obteve valores superiores ($p < 0,05$) a testemunha. Quanto a MSR nota-se que *B. subtilis* demonstrou-se superior ($p < 0,05$) ao Panta e a testemunha.

Tabela 1 – Massa seca da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST), em milho inoculado com *Bacillus subtilis*.

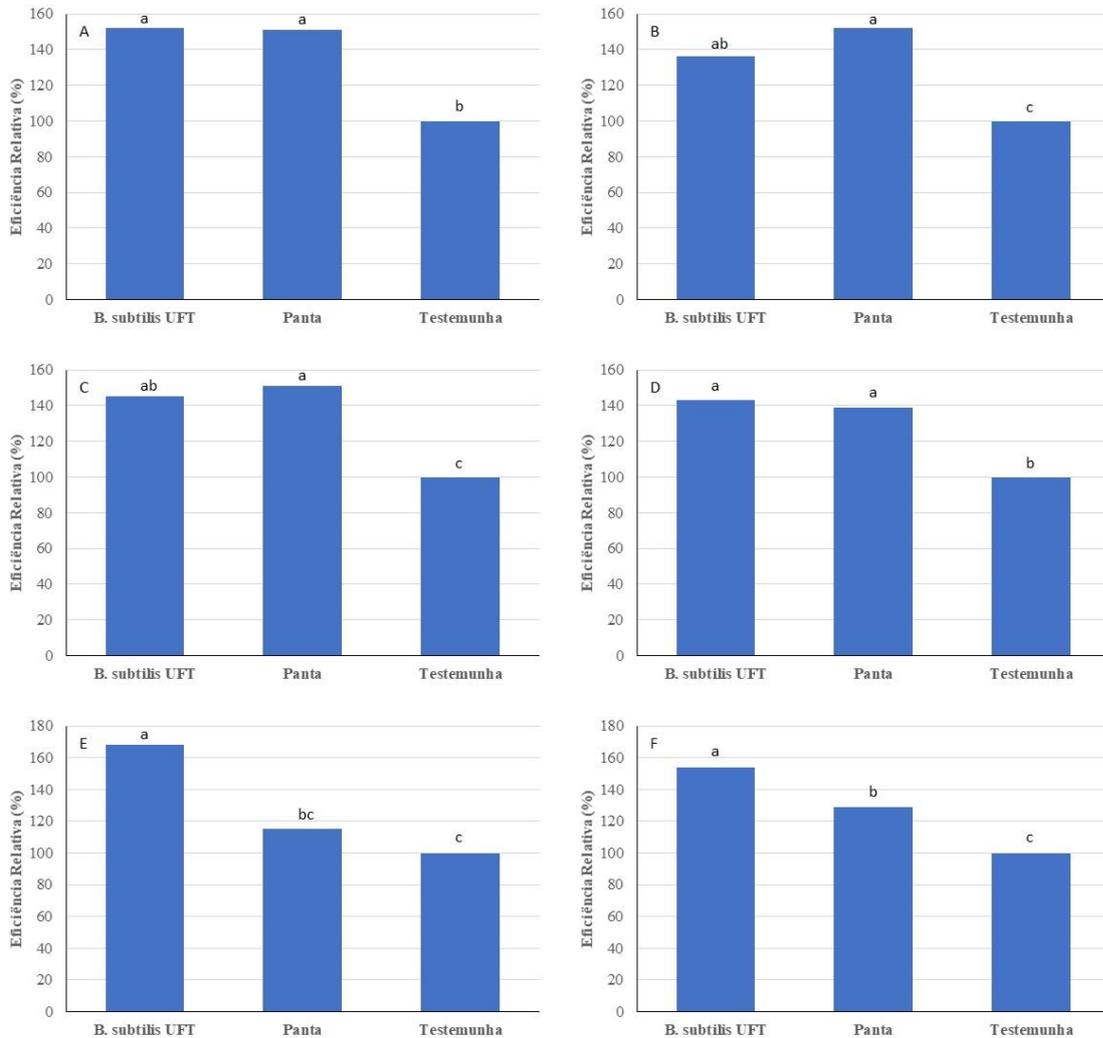
Tratamentos	VA19AVIP3			DKB335 PRO3		
	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
20 DAE						
<i>B. subtilis</i> UFT	13,23 a	9,78 a	23,02 a	16,50 a	11,35 a	27,85 a
Panta	13,09 a	10,97 a	24,06 a	17,50 a	16,78 b	34,29 a
Testemunha	8,70 b	7,21 b	15,91 b	9,81 b	9,38 a	19,20 b
CV (%)	12,36	13,92	6,77	10,40	14,59	8,76
40 DAE						
<i>B. subtilis</i> UFT	70,00 a	61,76 a	131,76 a	65,97 a	37,16 a	103,14 a
Panta	67,87 a	42,47 b	110,34 b	70,27 a	28,28 b	98,55 a
Testemunha	48,87 b	36,86 b	85,74 c	46,02 b	21,47 c	67,49 b
CV (%)	12,36	13	9,54	8,32	11,25	5,49

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F a 5%. DAE = Dias após a emergência. CV: Coef. de Variação.

Quanto à eficiência relativa (ER), que relaciona a biomassa da parte aérea do tratamento inoculado com *B. subtilis* com o tratamento testemunha sem inoculação, foi observado valores superiores ($p < 0,05$) para o tratamento com inoculação de *B. subtilis* UFT para ambas variedades.

Para a variedade VA19AVIP3, aos 20 DAE, a ER para a MSPA, MSR e MST foi superior para os tratamentos com *B. subtilis* em relação a testemunha, variando de 51 a 52% superior para a MSPA (Figura 2A), 36 a 52% superior para a MSR (Figura 2B) e 45 a 51% superior para a MST, respectivamente (Figura 2C). Aos 40 DAE, a ER para a MSPA, MSR e MST também foram superiores para os tratamentos com *B. subtilis* em relação a testemunha, variando de 39 a 43% superior para a MSPA (Figura 2D), 15 a 68% superior para a MSR (Figura 2E) e de 29 a 54% superior para a MST (Figura 2F), respectivamente.

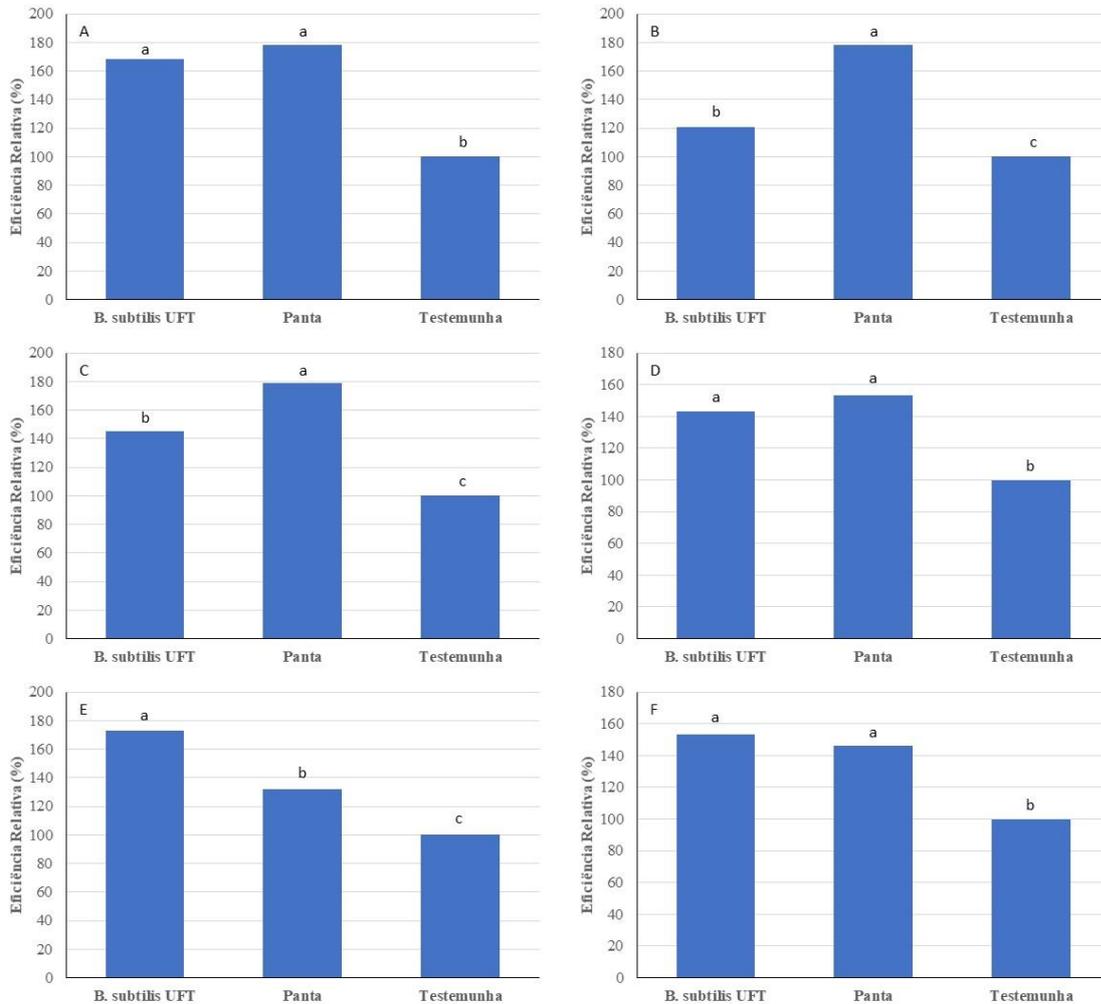
Figura 2 – Eficiência relativa para MSPA (A), MSR (B) e MST (C) aos 20 DAE e eficiência relativa para a MSPA(D), MSR (E) e MST (F) aos 40 DAE, de milho variedade VA19AVIP3 inoculado com *Bacillus subtilis* em relação a testemunha sem inoculação.



Fonte: Autor.

Para a variedade DKB335 PRO3, aos 20 DAE, a ER para a MSPA, MSR e MST foi superior para os tratamentos com *B. subtilis* em relação a testemunha, variando de 68 a 78% superior para a MSPA (Figura 3A), 21 a 78% superior para a MSR (Figura 3B) e 45 a 79% superior para a MST, respectivamente (Figura 3C). Aos 40 DAE, a ER para a MSPA, MSR e MST também foram superiores para os tratamentos com *B. subtilis* em relação a testemunha, variando de 43 a 53% superior para a MSPA (Figura 3D), 32 a 73% superior para a MSR (Figura 3E) e de 46 a 53% superior para a MST (Figura 3F), respectivamente.

Figura 3 – Eficiência relativa para MSPA (A), MSR (B) e MST (C) aos 20 DAE e eficiência relativa para a MSPA(D), MSR (E) e MST (F) aos 40 DAE, de milho variedade DKB335 PRO3 inoculado com *Bacillus subtilis* em relação a testemunha sem inoculação.



Fonte: Autor.

De acordo com os resultados, analisamos a capacidade que o isolado de *B. subtilis* UFT desempenha na promoção de crescimento das plantas, como observado para as duas variedades de milho. O sucesso que essa bactéria apresenta na promoção de crescimento de plantas possui ligação com suas características biológicas que favorecem a manutenção de sua viabilidade em bioformulados de forma facilitada (FILHO et al., 2010). Vale destacar que o aumento na biomassa vegetal proporcionada por *B. subtilis* UFT pode possibilitar um rápido desenvolvimento da plântula, condicionando a mesma a alcançar mais rapidamente o estágio de desenvolvimento, conseqüentemente permanecendo menos tempo em campo e favorece o escape contra patógenos. Além da capacidade de promover crescimento

através da produção de fitohormônios, essa bactéria atua na produção de siderófitos, antibióticos e na indução da resistência das plantas contra fitopatógenos (Kumari et al., 2018; Ahmad et al., 2018; Chagas Junior et al., 2022). Outra vantagem que as cepas de *Bacillus* desempenha está relacionada a sua capacidade de serem mais estáveis no ambiente devido a formação de endósporos, favorecendo sua adaptação em condições bióticas e abióticas extremas (Bahadir et al., 2018).

Chagas Junior et al. (2022), ao analisar o aumento da biomassa da soja após a inoculação de *B. subtilis* considera que o aumento pode ser em decorrência da capacidade que a bactéria tem em disponibilizar e solubilizar nutrientes como fósforo e nitrogênio. Ahmad et al. (2020), analisando seu experimento decorrente de 40 bactérias isoladas da rizosfera de plantas de algodão constatou que *B. subtilis* obteve maior eficiência em solubilizar fosforo insolúvel, bem como expressou importância no desenvolvimento de mudas do algodoeiro.

Um fator pelo qual os isolados de *B. subtilis* em teste podem ter atuado para aumento no incremento da biomassa é na disponibilidade e solubilização de nutrientes como o fósforo e o nitrogênio. Além disso, outros mecanismos que estimulam o crescimento das plantas estão também relacionados com o metabolismo microbiano no solo (Kalam et al., 2020). Cerqueira et al. (2015) em seu trabalho utilizando quatro isolados de *Bacillus* spp. realizou testes *in vitro* onde confirmou a produção de AIA, ARA (redução de acetileno) e ACC-deaminase por esses isolados.

Além disso, a disponibilidade e solubilização de nutrientes como o fósforo e o nitrogênio é outro mecanismo pelo qual a cepa *B. subtilis* em estudo pode ter atuado em aumentando a biomassa. Ahmad et al. (2018) observou a capacidade do isolado Q3, identificou como *B. subtilis*, para solubilizar fosfato, enquanto Satapute et al. (2012) analisaram a capacidade de o isolado *B. subtilis* AS-4 como fixador de nitrogênio bacterias (NFB), que podem ser exploradas como inoculante no solo. Um aumento tão maior na raiz e disponibilidade de P e N fornecidos pela inoculação de *B. subtilis* pode resultar em maior absorção de nutrientes pela planta. Isso pode explicar os resultados aqui encontrados, onde a inoculação com as doses de *B. subtilis* Bs10 proporcionou ganhos em biomassa nas duas variedades de milho.

Outro estudo realizado por Lima et al. (2011) constata que o desenvolvimento do milho e sua produtividade aumentou quando realizada a inoculação das sementes com *B. subtilis*. Mazzuchelli et al. (2014) afirma que a utilização de *B. subtilis* na cultura do milho possibilitou um aumento de aproximadamente 15% na massa fresca da parte aérea.

Resultados semelhantes também foram reportados por Mohamed et al. (2018) e Kalam et al. (2020) para o tomate, Guimarães et al. (2021) para a cultura do milho, Santos et al. (2021) para a cultura da aveia branca e Rezende et al. (2021) para o feijão.

Com base nos resultados de diversas pesquisas com milho e outras culturas e no presente trabalho, há a necessidade de usar produtos biológicos que sirvam como alternativa para o aumento na

biomassa e produtividade de culturas. Assim, a utilização de *B. subtilis* apresenta-se como uma alternativa para o tratamento de sementes de culturas como o milho, além de proporcionar um importante impacto na redução do uso excessivo de químicos, alcançando uma agricultura sustentável visando a proteção do ambiente.

CONCLUSÃO

Os *Bacillus subtilis* apresentaram capacidade de solubilizar fosfato de cálcio.

Sementes de milho inoculadas com *Bacillus subtilis* resultaram em plantas com maior acúmulo de biomassa.

AGRADECIMENTO

Ao grupo de pesquisa Agromicrobiologia Aplicada e Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

AHMAD, M.; AHMAD, I.; HILGER, T.H.; NADEEM, S.M.; AKHTAR, M.F.; JAMIL, M.; HUSSAIN, A.; ZAHIR, Z.A. Preliminary study on phosphate solubilizing *Bacillus subtilis* strain Q3 and *Paenibacillus* sp. Strain Q6 for improving cotton growth under alkaline conditions. **Peer J**, v. 4, n. 6, e5122, 2018.

AHMAD, I.; HUSSAIN, A.; JAMIL, M. Integrated use of phosphate-solubilizing *Bacillus subtilis* strain IA6 and zinc-solubilizing *Bacillus* sp. strain IA16: a promising approach for improving cotton growth. **Folia Microbiologica**, v. 66. p. 115-125, 2020.

BAHADIR, P.S.; LIAQAT, F.; ELTEM, R. Plant growth promoting properties of phosphate solubilizing *Bacillus* species isolated from the Aegean Region of Turkey. **Turkish Journal of Botany**, v. 42, n. 2, p. 183-196, 2018.

CERQUEIRA, W.F.; MORAIS, J.S.; MIRANDA, J.S.; MELO, I.K.S.; SANTOS, A.F.J. Influência de bactérias do gênero *Bacillus* sobre o crescimento de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 20, p. 82-93, 2015.

CHAGAS JUNIOR, A.F.; BRAGA JUNIOR, G.M.; LIMA, C.A.; MARTINS, A.L.L.; SOUZA, M.C. A *Bacillus subtilis* como inoculante promotor de crescimento vegetal em soja. **Diversitas Journal**, v. 7, n. 1, p. 0001-0016, 2022.

CONAB. Tocantins – Produção de grãos na safra 2021/2022 tende a superar 5,5 milhões de toneladas no estado, 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4432-tocantins-producao-de-graos-na-safra-2021-22-tende-a-superar-5-5-milhoes-de-toneladas-no-estado>.

COSTA, E.; CARVALHO, F.; ESTEVES, J.; NÓBREGA, R.; MOREIRA, F.M. Resposta da soja a inoculação e co-inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal e *Bradyrhizobium*. **Enciclopedia Biosfera**, v. 10, n. 19, p. 1678-1689, 2014.

GUIMARÃES, V.F.; KLEIN, J.; SILVA, A.S.L.; KLEIN, D.K. Eficiência de inoculante contendo *Bacillus megaterium* (B119) e *Bacillus subtilis* (B2084) para a cultura do milho, associado à fertilização fosfatada. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p: 1-28, 2021.

KALAM, S.; BASU, A.; PODILE, A.R. Functional and molecular characterization of plant growth promoting *Bacillus* isolates from tomato rhizosphere. **Heliyon**, v. 6, e04734, 2020.

KUMAR, R.; KUMAWAT, N.; SAGU, Y.K. Role of Biofertilizers in Agriculture. **Popular Kheti** v. 5, p. 63–66, 2017.

KUMARI, S.; PRABHA, C.; SINGH, A.; KUMARI, S.; KIRAN, S. Optimization of indole- 3-acetic acid production by diazotrophic *B. subtilis* DR2 (KP455653), isolated from rhizosphere of *Eragrostis cynosuroides*. **International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences**, v. 7, n. 2, p. 20-25, 2018.

LIMA, F.F.; NUNES, L.A.P.L.; FIGUEIREDO, M.V.B.; ARAÚJO, F.F.; LIMA, L.M.; ARAÚJO, A.S.F. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 3, p. 544-550, 2011.

MAZZUCHELLI, R.C.L.; SOSSAI, B.F.; ARAÚJO, F.F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**. v. 10, n. 2, p. 40–47, 2014.

MOHAMED, E.A.H.; FARAG, A.G.; YOUSSEF, S.A. Phosphate Solubilization by *Bacillus subtilis* and *Serratia marcescens* Isolated from Tomato Plant Rhizosphere. **Journal of Environmental Protection**, v. 9, n. 03, p. 266-277, 2018.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Update world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Science**, v. 11, p. 1633-1644, 2007.

RABINOVITCH, L.; OLIVEIRA, E.J. Coletânea de procedimentos técnicos e metodologias empregadas para o estudo de *Bacillus* e gêneros esporulados aeróbios correlatos. Rio de Janeiro: Montenegro Comunicação, 160 p. 2015.

REZENDE, C.C.; FRASCA, L.L.M.; SILVA, M.A.; PIRES, R.A.C.; LANNA, A.C.; FILIPPI, M.C.C.; NASCENTE, A.S. Physiological and agronomic characteristics of the common bean as affected by multifunctional microorganisms. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 599-618, 2021.

SANTOS, A.F.; CORREA, B.O.; KLEIN, J.; BONO, J.A.M.; PEREIRA, L.C.; GUIMARAES, V.F.; FERREIRA, M.B. Biometria e estado nutricional da cultura da aveia branca (*Avena sativa* L.) sob inoculação com *Bacillus subtilis* e *B. megaterium*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, e53410515270, 2021.

SATAPUTE, P.P.; OLEKAR, H.S.; SHETTI, A.A.; KULKARNI, A.G.; HIREMATH, G.B.; PATAGUNDI, B.I.; SHIVSHARAN, C.T.; KALIWAL, B.B. Isolation and characterization of nitrogen fixing *Bacillus subtilis* strain as-4 from agricultural soil. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 3, n. 9, p. 762-765, 2012.

SAXENA, A.K.; KUMAR, M.; CHAKDAR, H.; ANUROOPA, N.; BAGYARAJ, D.J. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, p. 1583-1594, 2019.

SLEPECKY, Ralph A. et al. The genus *Bacillus* – nonmedical. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K. (eds): *The Prokaryotes. A Handbook of the Biology of Bacteria*. Springer Science + Business Media, New York: p. 530–555, 2006.

SOUZA, A.E.; DOS REIS, J.G.M.; RAYMUNDO, J.C.; PINTO, R.S.; Estudo da produção do milho no Brasil. **South American Development Society Journal**, v. 4, n. 11, p. 182, ago. 2018.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHAES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, F. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazonia. **Acta Amazônica**, v. 12, n. 1, p. 15-22, 1982.