

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ZÉLIA NATHELY BASEGGIO ÁVILA

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES (EM) SOBRE A
CULTURA DE MILHO (*Zea mays* L.) VARIEDADE BRS CAIMBÉ ORGÂNICO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS - PR

2019

ZÉLIA NATHELY BASEGGIO ÁVILA

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES (EM) SOBRE A
CULTURA DO MILHO (*Zea mays* L.) VARIEDADE BRS CAIMBÉ ORGÂNICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Dois Vizinhos, como requisito para a obtenção do grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Deborah Catharine de Assis Leite.

DOIS VIZINHOS - PR

2019



TERMO DE APROVAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso nº __

Efeitos da utilização de microrganismos eficientes (EM) sobre a cultura de milho (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé orgânico

por

Zélia Nathely Baseggio Ávila

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado às 13 horas e 00 minutos do dia 05 de dezembro de 2019, como requisito parcial para obtenção do título de biólogo (Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos). O candidato foi arguido pela banca examinadora composta pelos membros abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Profª. Naiana C. Gabiatti
UTFPR – Dois Vizinhos

Profª. Deborah C. de Assis Leite
Orientadora
UTFPR – Dois Vizinhos

Prof. Sérgio M. Mazaro
UTFPR – Dois Vizinhos

Profª. Marciele Felippi
Coordenadora do Curso de Ciências
Biológicas
UTFPR – Dois Vizinhos

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que sempre esteve ao meu lado e nunca me desamparou. Que me fez enxergar que as coisas ao seu tempo são ainda melhores, basta termos paciência.

Agradeço a minha orientadora Professora Deborah Catharine de Assis Leite que logo ao chegar na Universidade aceitou o desafio de me orientar em uma etapa tão importante da minha graduação, o seu apoio e amizade durante esse processo foram fundamentais.

Agradeço ao professor Sérgio Miguel Mazaro que com muito carinho abraçou este projeto e tornou várias etapas possíveis.

Agradeço a professora Naiana Gabiatti e ao professor Joel Donazzolo pelo aceite e participação da banca.

Agradeço aos meus amigos Alex Batista Trentin por todo apoio e ajuda durante o processo de execução deste estudo, a Édina F. Baranoschi e Vanessa S. Pelentier pelo companheirismo durante esses quatro anos de graduação.

Ao doutorando Alexandre Hack Porto que contribuiu em várias etapas deste trabalho.

Aos técnicos do laboratório Thiago Villa e Izabel Gogone que me receberam com tanto carinho no laboratório de microbiologia.

Agradeço a minha família, minha mãe Indioara Luíza Baseggio, minhas irmãs Ana Eliza e Karulini e aos meus avós Carlos Baseggio e Iris Luíza Baseggio que sempre foram o meu suporte e a minha base.

Agradeço ao meu marido Eduardo Golin, que sempre esteve ao meu lado me incentivando e me dando suporte durante esses dez anos de companheirismo.

Agradeço a UTFPR por me proporcionar tantos momentos de aprendizagem.

No coração da ciência existe um equilíbrio essencial entre duas atitudes aparentemente contraditórias: uma abertura para ideias novas, por mais bizarras ou contrárias à intuição que sejam, e o exame cético mais implacável de todas as ideias, antigas e novas. É assim que verdades profundas são separadas de disparates profundos

Carl Sagan

RESUMO

ÁVILA, Zélia Nathely Baseggio. **Efeitos da utilização de microrganismos eficientes (EM) sobre a cultura de milho (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé orgânico.** 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2019.

A modernização da agricultura iniciou em meados da década de 1960 e proporcionou aumento na produtividade das lavouras brasileiras. Atualmente, o Brasil é considerado um dos maiores fornecedores de alimentos do mundo. Mas o método de produção utilizado, baseado no uso do “pacote tecnológico” disseminado pela Revolução Verde, trouxe consequências sociais e ambientais. Sabendo que os recursos naturais são limitados, métodos de produção de alimentos mais sustentáveis são imprescindíveis para garantir a segurança alimentar da população em constante crescimento. Desta forma, os microrganismos presentes no solo podem ser utilizados como uma ferramenta para disponibilizar nutrientes e proteger as plantas contra patógenos. Dentre esses microrganismos, encontram-se os microrganismos eficientes (EM), uma comunidade microbiana formada por fungos e bactérias oriundos de solos de mata e com potencial benéfico no desenvolvimento de plantas. Assim, o presente estudo avaliou os efeitos de microrganismos eficientes (EM) preparados de modo caseiro e EM comercial sobre o desenvolvimento do milho (*Zea mays* L.) variedade Caimbé orgânico por meio da avaliação dos parâmetros: altura das plantas, comprimento da raiz, massa fresca e seca das raízes e também da parte aérea. As populações bacterianas e fúngicas cultiváveis dos diferentes tipos de EM utilizados foram quantificadas apontando um predomínio de comunidades bactérias na composição dos EM. O experimento realizado em casa de vegetação utilizando os diferentes preparos de EM mostrou resultado significativo apenas para comprimento de raiz ($p < 0,05\%$), para os demais parâmetros analisados neste estudo não foi observado diferença significativa.

Palavras-chave: agricultura sustentável. milho orgânico. quantificação microbiana.

ABSTRACT

ÁVILA, Zélia Nathely Baseggio. **Effects of the use of Efficient Microorganisms (EM) on corn (*Zea mays* L.) variety BRS organic.** 2019. Course Conclusion Paper (Degree in Biological Sciences) - Federal Technological University of Paraná, Dois Vizinhos, 2019.

The modernization of agriculture began in the mid-1960s and provided an increase in the productivity of Brazilian crops. Currently, Brazil is considered one of the largest food suppliers in the world. However the production method used, which is based on the use of the “technological package” and it was disseminated by the Green Revolution, its brought social and environmental consequences. Additionally that natural resources are limited, more sustainable food production methods are essential to ensure the food security of the constantly growing population. In this way, soil microorganisms can be used as a tool to provide nutrients and protect plants against pathogens. Among these microorganisms are the Efficient Microorganisms (EM), a microbial community composed by fungi and bacteria from forest soils and with beneficial potential in plant development. Thus, the present study evaluated the effects of home-prepared and commercially Efficient Microorganisms (EM) on the development of the organic maize (*Zea mays* L.) variety BRS Caimbé by evaluating the parameters: plant height, root length, fresh and dry mass of the roots and also the aerial part. Cultivable bacterial and fungal populations of the different types of EM used were quantified indicating a predominance of bacterial communities in the composition of EM. The results showed at for different EM preparations that were found significant results just for root length ($p < 0,05\%$). For the other parameters analyzed in this study no significant difference was observed.

Keywords: sustainable agriculture. organic corn. microbial quantification.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1 MODERNIZAÇÃO DA AGRICULTURA.....	11
2.2 AGRICULTURA SUSTENTÁVEL.....	13
2.3 MILHO (<i>Zea mays</i> L.).....	16
2.4 MICROBIOLOGIA DO SOLO.....	20
2.5 MICRORGANISMOS EFICIENTES (EM).....	24
3. OBJETIVOS.....	28
3.1 OBJETIVO GERAL.....	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4 METODOLOGIA.....	29
4.1 PREPARO DOS MICRORGANISMOS EFICIENTES.....	29
4.1.1 Locais de coleta.....	29
4.1.2 Coleta de microrganismos eficientes (EM) método Bonfim e colaboradores (2011).	30
4.1.3 Coleta dos microrganismos eficientes (EM) método adaptado por Villela (2017).	31
4.1.4 Ativação dos EM.....	32
4.1.5 Preparo dos microrganismos eficientes comerciais.....	33
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	33
4.3 CONTAGEM E ISOLAMENTO DE FUNGOS E BACTÉRIAS PROVENIENTES DAS SOLUÇÕES DE EM.....	35
4.4 DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS.....	36
4.4.1 Altura das plantas.....	36
4.4.2 Comprimento de raízes.....	36
4.4.3 Massa fresca e massa seca de raízes e parte aérea.....	36
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.1 CONTAGEM E ISOLAMENTO MICROBIANO.....	38
5.2 DESENVOLVIMENTO VEGETAL.....	42
6 CONCLUSÃO.....	45
7 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

A modernização da agricultura brasileira foi iniciada em meados da década de 1960, impulsionada pela crescente demanda de alimentos em uma época de industrialização e crescimento demográfico, substituindo os métodos de produção tradicionais pelo uso de insumos e mecanização (CONCEIÇÃO; CONCEIÇÃO, 2014; GONZALEZ; COSTA, 1998; TEIXEIRA, 2005). Com a criação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) em 1973, novas tecnologias foram desenvolvidas para melhorar o desempenho das lavouras brasileiras e o Brasil passou a ser um dos maiores produtores de alimentos do mundo (OECD/FAO, 2015).

Contudo, a crescente demanda por alimentos e a limitação dos recursos naturais, abrem um novo desafio para o setor agrícola brasileiro: o desenvolvimento de tecnologias que colaborem para o desenvolvimento sustentável (EMBRAPA, 2018). Os métodos de produção atuais, que contam com monoculturas e o emprego constante de fertilizantes inorgânicos e agrotóxicos, prejudicam o equilíbrio natural dos solos, alterando a dinâmica da microbiota, tornando as plantas cada vez mais susceptível à patógenos, e conseqüentemente exigindo continuamente maiores quantidades de fertilizantes minerais e agrotóxicos (PII et al., 2015; SINGH; PANDEY; SINGH, 2011).

Desta forma, tem se buscado alternativas que possibilitem uma gestão mais adequada dos recursos naturais na produção agrícola, garantindo assim a qualidade e conservação dos recursos para as gerações futuras (SINGH; PANDEY; SINGH, 2011). Em vista desta demanda, uma das alternativas tecnológicas que visam a sustentabilidade nos processos de produção agrícolas é a utilização de microrganismos do solo que compõem a rizosfera. Alguns destes microrganismos são benéficos às plantas, aumentando a eficiência na obtenção de nutrientes e podendo resultar na diminuição do uso de fertilizantes inorgânicos (PII et al., 2015; REIS, 2007; SINGH; PANDEY; SINGH, 2011).

Assim, os inoculantes contendo rizobactérias promotoras do crescimento de planta (PGPR, do inglês plant growth-promoting rhizobacteria) passaram a fazer parte das estratégias de gestão agrícola mais eficientes e sustentáveis, uma vez que em densidades corretas as PGPRs possuem efeito biofertilizante e/ou biopesticida (MAYER et al., 2010; VEJAN et al., 2016). Contudo, segundo Mayer e colaboradores (2010) inoculantes com PGPRs, em geral incluem, uma única espécie microbiana ou uma única cepa de microrganismo, contudo as interações microbianas são complexas e se complementam,

portanto inoculantes com maior diversidade de microrganismos tendem a se instalar mais facilmente no solo, atuando sobre o crescimento e desenvolvimento da planta (HIGA; PARR, 1994).

Os microrganismos eficientes (EM) são inoculantes compostos por uma complexa comunidade microbiana. Este grupo de microrganismos possui em sua composição leveduras, actinomicetos, bactérias fotossintetizantes, bactérias lácticas e fungos fermentadores (BONFIM et al., 2011; CÓNDROR-GOLEC; PÉREZ; LOKARE, 2013; MAYER et al., 2010). Estes microrganismos contribuem com o aumento da diversidade microbiana do solo, promovem maior desenvolvimento vegetal, protegem as plantas contra patógenos e melhoram a qualidade do solo (BONFIM et al., 2011; HIGA; PARR, 1994).

Os EM são coletados a partir de solos férteis de matas por meio de metodologias simples e baratas (BONFIM et al., 2011), consistindo em uma ferramenta com potencial para ser utilizados por agricultores familiares. Em vista disso, e da crescente preocupação com os problemas ambientais gerados pelos processos de produção agrícolas empregados ao longo das últimas décadas, vê-se a necessidade de pesquisas que apontem os reais benefícios dos EM sobre as plantas e sobre o solo (MAYER et al., 2010; CÓNDROR-GOLEC; PÉREZ; LOKARE, 2013).

Desta forma, o presente estudo tem por objetivo analisar o uso de microrganismos eficientes (EM) caseiro provenientes de diferentes locais de coleta e EM comercial sobre o desenvolvimento do milho (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé orgânico, a escolha desta variedade está atrelada as suas ótimas características agronômicas e alta adaptabilidade sendo uma excelente opção para a agricultura familiar conforme Pacheco et al., (2009). Também as comunidades de fungos e bactérias cultiváveis dos diferentes tipos de EM utilizados serão quantificadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MODERNIZAÇÃO DA AGRICULTURA

A agricultura brasileira ocupa um papel significativo no cenário econômico do país. Segundo Teixeira (2005), a expansão do setor agrícola no Brasil teve início na década de 1950 e a partir de 1960 se efetivou. Até aquela época, a agricultura era concentrada em culturas como café e cana-de-açúcar destinados à exportação, e outras culturas para o abastecimento interno (GONZALEZ; COSTA, 1998; TEIXEIRA, 2005).

Neste período os métodos de produção era basicamente tradicionais com o uso intensivo de mão de obra, e a exploração de novas terras conferiam o aumento da produção (GONZALEZ; COSTA, 1998). Mas com o aumento da população em uma época de industrialização, urbanização, crescimento demográfico e econômico, a produção agrícola não era suficiente para abastecer a população (EMBRAPA, 2018; CONTINI; MARTHA, 2010).

Diante desse cenário, e com as novas descobertas científicas e avanços tecnológicos no setor conduzidos pela Revolução Verde, instaurou-se no Brasil o processo de modernização da agricultura (CONCEIÇÃO; CONCEIÇÃO, 2014; EHLERS, 1999; GONZALEZ; COSTA, 1998). No país até a década de 60 os institutos de pesquisas agrônomicas concentravam suas pesquisas em processos biológicos e vegetativos, mas com a influência da Revolução Verde, as pesquisas passaram a se dedicar ao padrão tecnológico, contribuindo com o processo de modernização da agricultura (EHLERS, 1999).

Assim, segundo Ehlers (1999) três fatores formaram a base da agricultura moderna, o primeiro baseado nos estudos de Justus von Liebig (1803 – 1783) que postulou a “Lei do mínimo”, fomentando a adubação mineral a partir de compostos nitrogenados, fosfatados e potássicos solúveis. O segundo fator foi pautado sobre os estudos do monge Johann Gregor Mendel (1822-1884) que deu início a ciência genética. Estes estudos foram fundamentais para a seleção das características de interesse agrícola e o desenvolvimento de variedades melhoradas. Já o terceiro fator compreende na utilização de motores a combustão, que facilitaram as atividades no campo.

Esta modernização da agricultura foi o ponto crucial para que os sistemas agrícolas mudassem e entrassem em uma “nova era”. Neste contexto, muitas propriedades deixaram de utilizar métodos tradicionais de trabalho baseado nos conhecimentos empíricos utilizando técnicas extensivas, e passaram a investir em tecnologias, fosse na aquisição de novas

máquinas e equipamentos agrícolas ou na adoção de novos processos de produção (GONZALEZ; COSTA, 1998; TEIXEIRA, 2005).

Um importante passo na modernização agrícola brasileira foi a criação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) em 1973, além de instituições de ensino que contribuíram com pesquisas para incrementar a produtividade na geração de inovações tecnológicas aplicadas ao agronegócio (CONCEIÇÃO; CONCEIÇÃO, 2014).

Segundo Contini e Martha (2010) três políticas foram imprescindíveis no processo de modernização agrícola brasileira: i) crédito subsidiado para a compra de insumos; ii) extensão rural; iii) apoio a pesquisas agropecuárias. Desta forma, o setor agrícola recebia investimento para pesquisas, treinamento de pesquisadores e em extensão rural, possibilitando proposta de soluções viáveis para o plantio em solos pobres como o do Cerrado, hoje o principal polo de crescimento agrícola do país (MAROUELLI, 2003).

No histórico evolutivo da agricultura brasileira nas primeiras décadas que sucederam a Segunda Guerra Mundial, a produção de alimentos do Brasil dependia da expansão de área plantada. Mas partir dos anos de 1970, o aumento da produção de alimentos passou a ser explicada principalmente pelos ganhos na produtividade devido a adesão ao chamado “pacote tecnológico” disseminado pela Revolução Verde (CONTINI; MARTHA, 2010).

Com a evolução agrícola que teve início entre as décadas de 1950 à 1960 o Brasil aumentou sua produção progressivamente e atualmente se tornou destaque no setor. A safra 2016/2017 atingiu o recorde de produção interna de grãos abastecendo o Brasil e mais de 150 países, sendo a exportação a força motriz para o crescimento da agricultura brasileira (EMBRAPA, 2018). Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) o Brasil é o segundo maior fornecedor global de alimentos e produtos agrícolas, este posicionamento que se deve aos investimentos em pesquisas e novas tecnologias ao longo dos últimos decênios, que contribuíram para o aumento da produtividade, melhorando o rendimento das culturas (OECD/FAO, 2015).

Para tanto, juntamente com a expansão da agricultura, observa-se um crescente foco nos problemas ambientais gerados pela exploração dos recursos naturais. Já se sabe que a perda da biodiversidade é uma das questões ambientais mais preocupantes atualmente e está diretamente ligada com a agricultura (PERFECTO; VANDERMEER, 2010).

Sabendo que os recursos naturais são limitados e a necessidade de buscar modelos agrícolas sustentáveis, são necessárias pesquisas e incentivos aos produtores rurais para que sejam adotadas práticas sustentáveis como: agricultura orgânica, agroflorestal, recuperação de pastagens degradadas, uso do controle biológico contra pragas e doenças (EMBRAPA, 2018). A agricultura sustentável está entre os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) coordenados pela ONU (Organização das Nações Unidas), que prevê a erradicação da fome a partir da garantia da segurança alimentar, melhoria da nutrição e promoção da agricultura sustentável (ONU, 2015).

2.2 AGRICULTURA SUSTENTÁVEL

Tendo em vista as preocupações instigadas pelos processos de produções em um época de industrialização e urbanização, em 1987 a Comissão Mundial para o Meio Ambiente e Desenvolvimento publicou o Relatório Brundtland (Nosso Futuro Comum). Este relatório apresenta uma visão crítica ao modelo de desenvolvimento exercido pelos países industrializados, propondo assim, o “desenvolvimento sustentável”, o qual deveria conciliar o desenvolvimento econômico e a conservação dos recursos naturais por várias gerações (EHLERS, 1999).

O conceito de sustentabilidade integra as dimensões ambientais, econômicas e sociais (EHLERS, 1999; GOMES, 2004; VIEGA, 1996). Segundo Gomes (2004) a dimensão econômica se refere aos investimentos públicos e privados, bem como a otimização do uso dos recursos energéticos e gestão adequada dos recursos naturais. A dimensão ambiental está ligada ao conceito de autodepuração, ou seja, a capacidade de recuperação dos ecossistemas; e a dimensão social visa a redução das diferenças sociais, com a melhor distribuição de renda.

Desta forma, a agricultura também passou a ser foco do desenvolvimento sustentável, uma vez que a modernização da agricultura e os avanços tecnológicos empregados nas lavouras, difundidos pela Revolução Verde, baseavam-se no uso maciço de fertilizantes químicos e agrotóxicos. Em decorrência destas práticas agrícolas os problemas ambientais se tornaram cada vez mais graves, impactando o solo e a água pela contaminação química e erosão, gerando perda de biodiversidade, resultando em um dos problemas mais significativos relacionado a produção de alimentos (ALTIERI, 1995; EHLERS, 1999; FERRAZ, 2003; PERFECTO, VANDERMEER, 2010).

A agricultura sustentável apresenta duas perspectivas, uma se refere a uma medida de curto prazo, em que é aplicado à agricultura convencional e são introduzidas tecnologias que buscam a responsabilidade social e ambiental, implicando na redução e otimização do uso de insumos químicos, ou até mesmo substituição por tecnologias que buscam a responsabilidade ambiental, como o manejo integrado de pragas, fixação biológica de nutrientes e o plantio direto (EHLERS, 1995; HESPANHOL, 2008; KITAMURA, 2002).

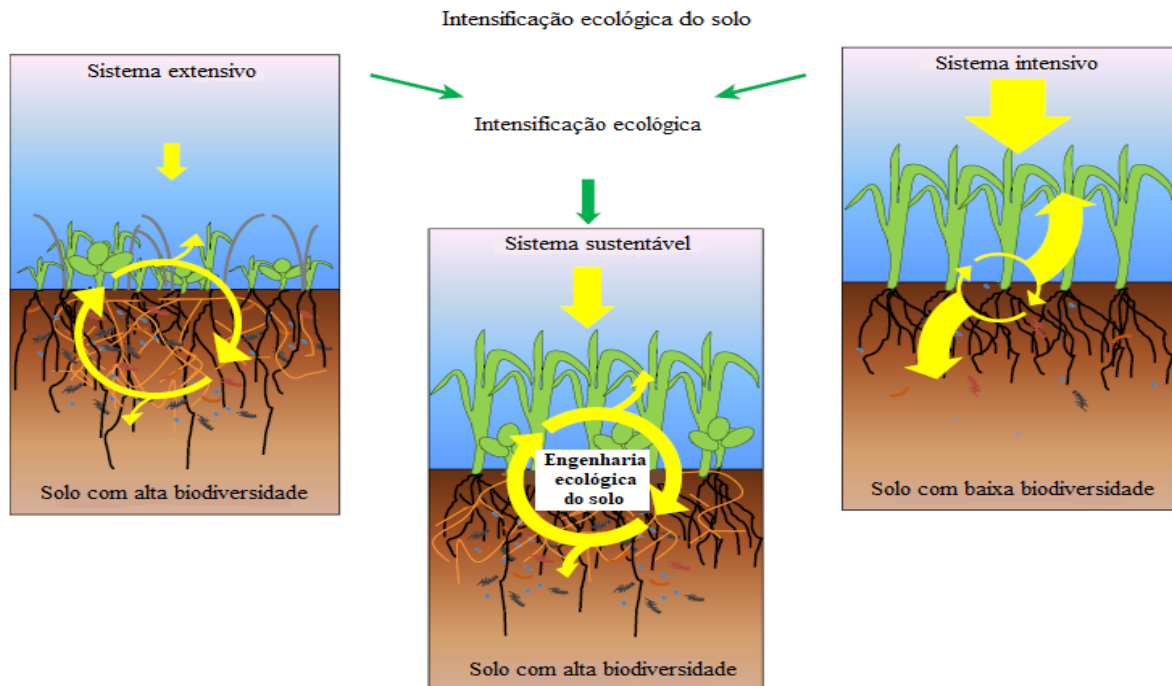
Já a segunda perspectiva da agricultura sustentável se refere a mudança de todo o sistema com a adoção de métodos agroecológicos (KITAMURA, 2002). Segundo Altieri (2018) a agroecologia preza pelo uso das relações ecológicas, como predador e presa, competição, comensalismo, como método de produção sustentável, assim conhecendo essas relações elas podem ser utilizadas para otimizar a produção diminuindo o uso de insumos agrícolas e assim impactando menos o meio ambiente.

Assis e Romeiro (2014), acrescentam que a agroecologia forma a base teórica para os distintos movimentos de agricultura alternativa que surgiram com mais intensidade a partir da década de 1920, como a agricultura orgânica, a agricultura biodinâmica, a agricultura natural e a agricultura biológica que prezavam pelos processos biológico e o uso da matéria orgânica (EHLERS, 1999).

Desta forma, Bender, Wagg e Heijden (2016) apontam que ao observar a ecologia da microbiota de solos cultivados no sistema de monoculturas, nota-se uma baixa biodiversidade de microrganismos, à medida que, esses sistemas são altamente dependentes de insumos químicos. Já em sistemas de cultivo extensivos, a ecologia do solo é diversa, porém são caracterizados por baixos níveis de entrada e saída de recursos, resultando em baixa produtividade.

No entanto, a intensificação ecológica reúne as características positivas dos dois sistemas, mantendo uma alta diversidade da biota do solo, reduzindo a utilização de insumos e mantendo a produtividade de culturas mantidas em sistemas intensivos (Figura 1) (BARROS; MARTINS; CINTRA, 2011; BENDER; WAGG; HEIJDEN, 2016).

Figura 1 – Modelo esquemático do método de Intensificação ecológica do solo.



Fonte: adaptado de Bender, Wagg e Heijden, 2016.

Entre os métodos de cultivos não convencionais, a agricultura orgânica vem ganhando cada vez mais espaço entre as lavouras. A preocupação com a saúde e com os danos ambientais causados pela agricultura convencional, fez aumentar o interesse do consumidor por produtos orgânicos, o que impulsionou o crescente número de propriedades adeptas a essa prática mostrando que o consumidor exerce papel central na nova formatação do setor agrícola (EMBRAPA, 2018; KITAMURA, 2002).

Segundo o Conselho Brasileiro de Produção Orgânica e Sustentável (Organis) o mercado brasileiro faturou em 2018 R\$ 4 bilhões, um aumento de 20% comparado com o ano anterior, já o mercado global movimentou em 2017 US\$ 97 bilhões, liderado pelo Estados Unidos seguido pela Alemanha, França e China. A agricultura orgânica cresceu em todos os continentes, ocupando uma área recorde de 70 milhões de hectares aproximadamente. Esses dados comprovam a tendência mundial, para o qual, o setor agrícola deverá migrar. Atualmente, o Brasil é líder no mercado de orgânicos na América Latina, contudo no que se refere a extensão de terras destinadas à produção de orgânicos, o país se encontra em terceiro lugar, o que demonstra que ainda há muito espaço para progredir neste aspecto (MAPA, 2019).

A horticultura é o principal ramo da agricultura na produção orgânicos e os produtos mais consumidos são verduras (63%), legumes (25%) e frutas (25%), já os cereais correspondem a 12% do consumo total, segundo dado do Conselho Brasileiro de Produção Orgânica e Sustentável (2017). A região Sul concentra a maioria dos produtores orgânicos, são mais de seis mil produtores (SEBRAE, 2019), onde, segundo o Centro Paranaense de Referência em Agroecologia (CPRA), o Paraná é o estado que concentra o maior número, cerca dois mil produtores certificados no ano de 2017.

No Paraná a produção e comércio de produtos orgânicos ocorre desde a década de 1980. Entre os anos de 1993 e 1994 no sudoeste do estado foram cadastrados 94 produtores rurais dos municípios de Planalto, Capanema e Pérola D'Oeste pelo Instituto Verde Vida (OLTRAMARI, 2003). Em 2002 a empresa Gebana Brasil (Cataratas do Iguaçu Produtos Orgânicos LTDA), que possui sede na Suíça se instalou no município de Capanema, oferecendo aos agricultores: assistência, fornecimento de insumos apropriados ao sistema de produção, recebimento e comercialização dos produtos (FILHO, 2018).

Cruz e colaboradores (2006) mencionam, ainda, que pesquisas em tecnologias e novos conhecimentos são necessários para que a agricultura orgânica se estabeleça nas propriedades brasileiras, tornando assim os agricultores familiares competitivos nesse sistema de produção. Assim, a agricultura familiar, se torna protagonista na transição para sistemas sustentáveis pois, segundo Ehlers (1999), a agricultura familiar possui uma série de vantagens, evidenciadas pela maior capacidade de gerenciamento, mão-de-obra mais qualificada, tendência pela diversificação de culturas, além da preservação dos recursos naturais.

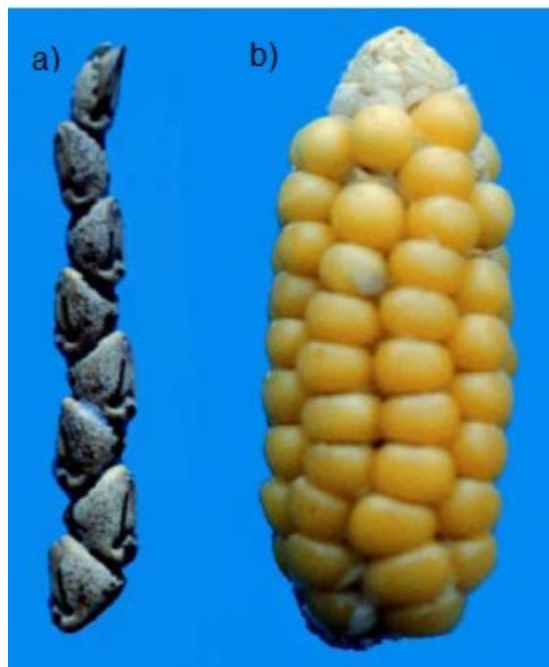
2.3 MILHO (*Zea mays* L.)

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae, antiga família Gramineae, monocotiledôneas pertencentes à tribo Maydae é uma espécie anual, monóica mas que realizam fecundação cruzada, ou seja, são alógamas e diplóides (2n) (EMBRAPA, 2002). Na perspectiva econômica a família Poaceae é a principal família das angiospermas, inclui plantas importantes que estão inseridas na alimentação de grande parcela da população, como o trigo (*Triticum aestivum*) e o arroz (*Oryza sativa*) além do milho (*Zea mays* L.). Pertencem também, a aveia (*Avena sativa*), sorgo (*Sorghum bicolor*), cana-de-açúcar (*Saccharum*

officinarum) consistindo em uma das famílias mais bem sucedidas em termos de cultura agrícola (SOUZA; LORENZI, 2012).

O gênero *Zea* é um grupo de gramíneas anuais e perenes nativas do México e América Central e inclui os teosintes, entre eles as espécies *Zea mays ssp. parviglumis* e *Z. mays ssp. mexicana* consideradas atualmente como as ancestrais silvestre do milho domesticado (EMBRAPA, 2008; TIAN; STEVENS; BUCKLER, 2009). O teosinte é uma planta nativa da América Central que possui apenas duas fileiras de grãos, estes variam de 6 à 12 por espiga, os grãos são protegidos por um rígido tegumento, enquanto o milho domesticado apresenta aproximadamente 20 ou mais linhas com vários grãos (Figura 2) (TIAN; STEVENS; BUCKLER, 2009).

Figura 2 - Diferenças morfológicas entre o a) teosinte e b) milho domesticado.

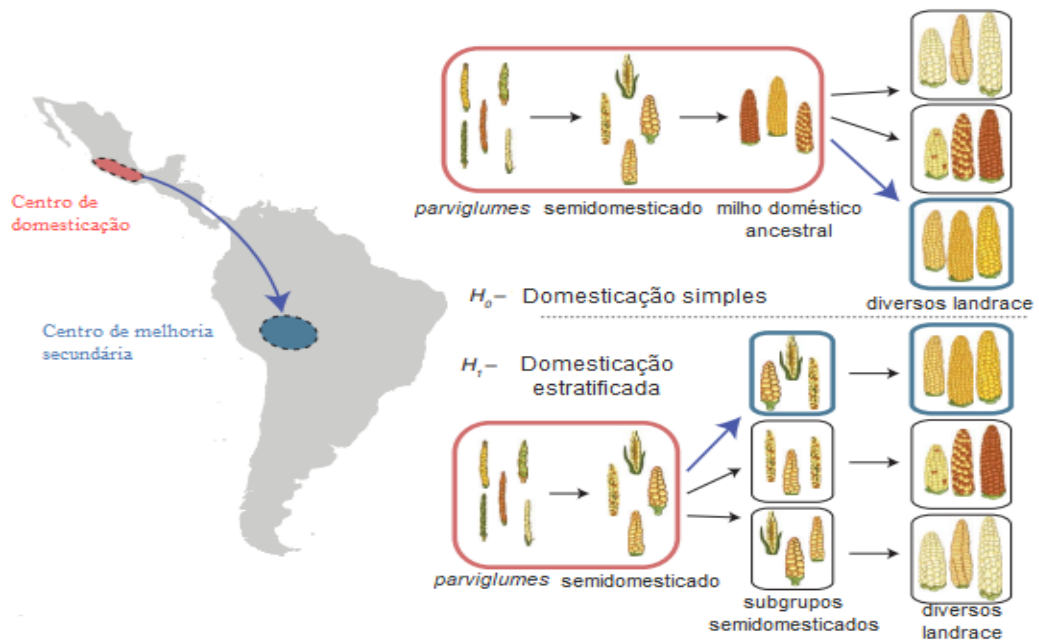


Fonte: adaptado de Tian, Stevens & Buckler, 2009.

O início da domesticação do milho ocorreu na América Central pelos povos pré-colombianos há aproximadamente 9.000 anos atrás. A interferência humana foi fundamental para o rápido processo de evolução da planta, algumas características eram selecionadas como a seleção de indivíduos que mantivessem os grãos na espiga, descartando os que se desprendiam facilmente (ALVES, 2017). Não se sabe ao certo o que despertou o interesse destes povos pelo teosinte, mas a ação antrópica foi fundamental para a rápida evolução da espécie, resultando no milho atual (GALINAT, 1992; KISTLER et al., 2018).

Há cerca de 6.500 anos o milho primitivo, ainda não totalmente domesticado foi transportado pelo homem para a região sudoeste da Amazônia, o qual se desenvolveu em completo isolamento fator importante tanto para a evolução natural quanto para a evolução sob domesticação (GALINAT, 1992; KISTLER et al., 2018).

Figura 3 – Processo de domesticação do milho, hipótese domesticação simples e domesticação estratificada.



Fonte: adaptado Kistler et al., 2018.

Estudo recente publicado na revista norte-americana Science, sugere um novo modelo para o processo de domesticação do milho baseado em dados genéticos, arqueológicos, linguísticos e paleoecológicos. Segundo o estudo o evento de domesticação ocorreu de maneira estratificada, ou seja, várias linhagens parcialmente domesticadas foram transportadas para a América do Sul, no qual, se estabeleceram e foram amplamente propagados pela intensificação da agricultura (Figura 3), esse modelo de domesticação contesta o atual modelo, no qual pressupõe que o milho que chegou a América do Sul já era domesticado (KISTLER, 2018; EMBRAPA, 2018).

Desta forma o milho foi amplamente distribuído pelas Américas por influência antrópica, e se adaptou à ambientes variados, o que explica sua grande variabilidade genética, contribuindo para que a espécie se diferenciasse em mais de 300 raças (EMBRAPA, 2008; GALINAT, 1992).

Para que melhoramentos genéticos sejam feitos é necessário a disponibilidade de material genético diverso, encontrado nas sementes crioulas, assim estas são preservadas no banco de germoplasma. No Brasil, em 1952 a Esalq (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz) foi precursora em pesquisas sobre raças crioulas do Brasil coletando inicialmente mais de 3.000 amostras e, atualmente esse banco é gerido pela Embrapa (TEIXEIRA, 2008). As raças de milho encontradas no Brasil são divididas em quatro categorias, conforme Paterniani e Goodman (1977): raças indígenas, raças comerciais antigas, raças comerciais recentes e raças exóticas, e cada categoria possui seus subgrupos (TEIXEIRA, 2008).

Tabela 1. Raças de milho encontradas no Brasil seus subgrupos e principais características.

Raças	Subgrupos	Principais Características
Raças indígena	Pipoca Guaraní Morotí Caingang Lenha Entrelaçado	Milhos cultivados apenas por indígenas e que provavelmente mantiveram as características pré-colombianas.
Raças Comerciais Antigas	Cristal Sulino Cristal Canário de Ocho Cateto Sulino Precoce Cateto Sulino Cateto Sulino Grosso Cateto Cateto Nortista	São as raças de origem indígena, que eram encontradas no período pré-colombiano, mas que foram cultivadas por agricultores imigrantes.
Raças Comerciais Recentes	Dente Riograndense Dente Paulista Dente Branco Semi-dentado Cravo	São raças cultivadas no Brasil depois da época pré-colombiano, e que vieram de outras regiões ou sofreram cruzamento com outras raças.
Raças Exóticas	Hickory King Túson	Raças introduzidas no Brasil com interesse comercial, possibilitando avanços no melhoramento genético do milho.

Fonte: PATERNIANI, GOODMAN, 1977; TEIXEIRA, 2008.

O conhecimento das raças de milho proporcionaram o melhoramento das sementes, selecionando características de interesse que atendam às necessidades de cada região. O desenvolvimento de espécies híbridas, por exemplo, foi fundamental para o aumento da produtividade, e hoje pequenos e grandes produtores passaram a utilizar essas espécies (TEIXEIRA, 2008). Sendo a importância da introdução do milho híbrido no Brasil comparada

a importância da utilização de adubos químicos e outras tecnologias aplicadas ao desenvolvimento da agricultura (VIEGAS, 1986).

A produção total do milho mundialmente é concentrado principalmente nas Américas, que até 2017 detinha 52,5% da produção mundial (FAOSTAT, 2019). Os Estados Unidos é o maior produtor do grão, seguido pela China, e pelo Brasil ocupante da terceira posição no ranking (FAOSTAT, 2019). No Brasil as maiores produções se concentram no estado do Mato Grosso e Paraná (CONAB, 2018).

A importância do milho está atrelada principalmente ao seu valor energético composto predominantemente por carboidratos (amido) e lipídios (PAES, 2006), além de ser um produto versátil atendendo a alimentação de animais, indústria de derivados para o consumo humano, e também parte da produção vai para as indústria farmacêutica, têxtil, química como mencionado por Paes (2006). A produção brasileira é destinada, principalmente, ao mercado interno. Em razão do seu alto valor energético a maior parte da produção, é destinada à alimentação animal, os segmentos da avicultura, suinocultura e bovinocultura (de corte e de leite) são os maiores consumidores do grão (ALVES; AMARAL, 2011; LANDAU et al., 2010).

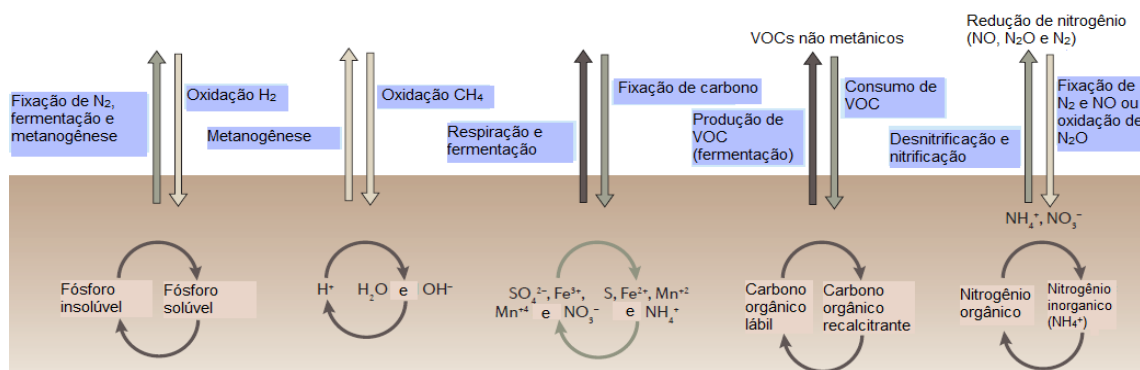
2.4 MICROBIOLOGIA DO SOLO

O solo abriga um complexo e estruturado ecossistema, que está sujeito as características edáficas e climáticas de cada ambiente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por ser um ambiente heterogêneo e dinâmico, organismos com diferentes metabolismos podem conviver e interagir de forma dinâmica e equilibrada, contribuindo para que este habitat esteja entre os mais diversos em termos biológicos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; BENDER, 2016).

Segundo Fierer et al., (2012) os microrganismos presentes no solo desempenham papel essencial na fertilidade e qualidade dos solos, saúde das plantas e na ciclagem de nutrientes como o nitrogênio (N) e o carbono (C). Os processos bioquímicos que transformam os elementos químicos como C e N (Fierer, 2017) (Figura 4), garantem a transferência de energia e nutrientes para o sistema solo-planta-atmosfera asseguram a sustentação e produtividade dos ecossistemas terrestres (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Adicionalmente, a

manutenção e sobrevivência da vida animal e dos seres humanos está diretamente relacionada com a qualidade do solo, uma vez que o solo oferece suporte às plantas, produtores primários da cadeia trófica (BRADY; WEIL, 2013).

Figura 4 - Alguns dos processos biogeoquímicos realizados pelos microrganismos do solo.



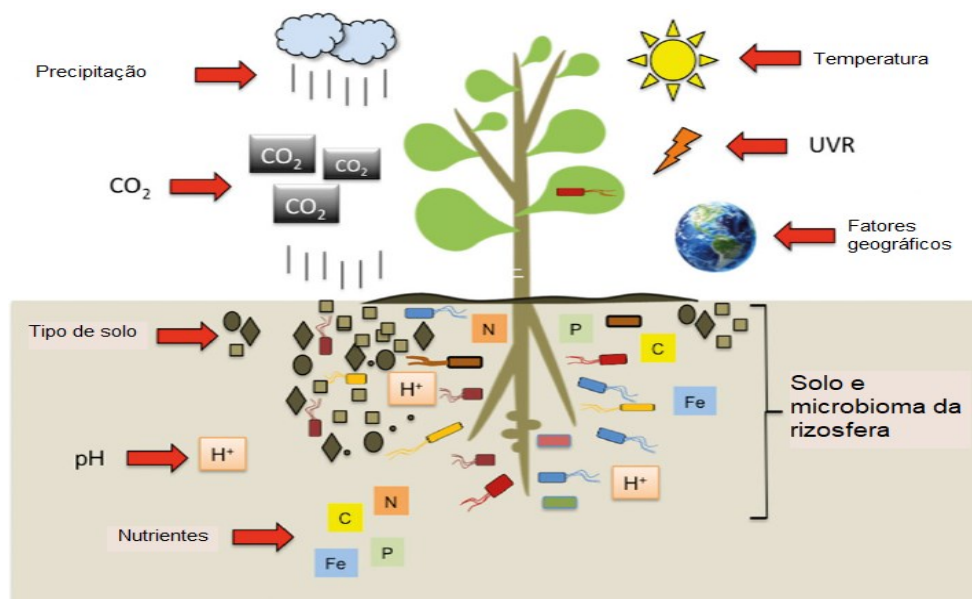
Fonte: adaptado de Fierer, (2017).

Como exemplo, do papel dos microrganismos do solo na ciclagem dos nutrientes, e por sua vez sobre a fertilidade do solo, têm-se os microrganismos do solo que se encontram próximos à região da raiz das plantas e podem atuar simbioticamente com as mesmas utilizando nutrientes mineralizados para formação de matéria orgânica, que eventualmente reentram no solo para ser decomposto novamente (BENDER; WAGG; HEIJDEN, 2016).

Dentre estas as relações simbióticas que ocorrem, uma das mais conhecidas, é a simbiose entre as bactérias do gênero *Rhizobium* e plantas da família *Leguminosae*. Esta relação resulta em um processo executado exclusivamente por bactérias denominado Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN). Estes microrganismos possuem a enzima nitrogenase, necessária para a redução do nitrogênio atmosférico em sua forma inorgânica que poderá por sua vez ser disponibilizado para as plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A estrutura microbiana do solo está diretamente relacionada com as características físicas, químicas e biológicas do solo, neste sentido, o pH pode ser citado como um dos fatores influenciam fortemente a variação da composição da comunidade de maneira local, regional e até mesmo continental (FIERER et al., 2012). Fierer et al, (2012) e Santoyo et al., (2017) apontam, ainda, que as concentrações de carbono orgânico, a temperatura do solo, umidade e outros nutrientes disponíveis, também, atuam na variação das comunidades microbianas (Figura 5).

Figura 5 – Fatores que interferem na microbiota do solo.



Fonte: Adaptado de Santoyo et al., (2017).

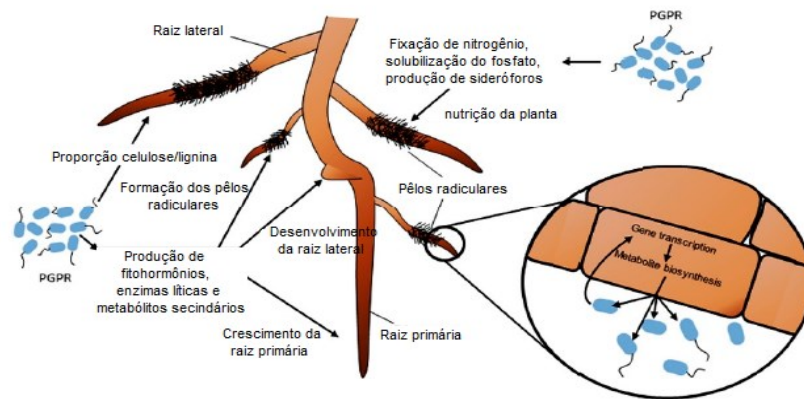
A parte do solo que sofre influência da raiz da planta é conhecida como rizosfera, é um ambiente rico em nutrientes e por consequência possui máxima atividade microbiana (CARDOSO; FREITAS, 1992; ROMAGNOLI; ANDREOTI, 2016). Os compostos encontrados na rizosfera incluem ácidos orgânicos, açúcares, ácidos fenólicos, flavanóides, carboidratos e enzimas, mas é importante destacar que a composição dos exsudados radiculares é muito variável, depende da planta e das condições ambientais como o tipo de substrato, temperatura e características químicas do solo (PII et al., 2015).

A quantidade de bactérias presente na região da rizosfera, geralmente é de 10 à 100 vezes maiores que no restante do solo, a maior concentração de microrganismos nesta região é explicado pela quimiotaxia, influenciada pelos exsudados radiculares (PII et al., 2015). A rizosfera pode ser colonizada por bactérias que ocasionam efeitos benéficos sobre as plantas, estas são denominadas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, e receberam a denominação de PGPR (do inglês, “plant growth promoting rhizobacteria”) por Kloepper & Schroth em 1981 (DIDONET; FERREIRA, 2012; PII et al., 2015; VEJAN et al., 2016).

A partir das interações entre as PGPR e as plantas, elas podem ser classificadas em quatro grupos diferentes: i) as simbióticas, o qual, formam estruturas especializadas nas raízes de leguminosas, como o desenvolvimento de nódulos pelos rizóbios; ii) as endofíticas que colonizam tecidos internos das plantas sem ser patogênicas; iii) as que colonizam a superfície da raiz; iv) as que colonizam o solo próximo a raiz, utilizando como fonte de nitrogênio e carbono os metabólitos das plantas (DIDONET; FERREIRA, 2012).

As PGPR podem aumentar a disponibilidade e concentração de nutrientes na rizosfera, eles atuam na fixação biológica do nitrogênio, o nutriente mais limitante para as plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Também as PGPR possuem a capacidade de solubilizar o fosfato, aumentando a concentração de íons de fosfato no solo, possibilitando a absorção do nutriente pela planta (figura 6) (DIDONET; FERREIRA, 2012; VEJAN et al., 2016).

Figura 6 – Interação entre a planta e as PGPR.



Fonte: adaptado de Vejan et al., (2016).

Além de aumentar a disponibilidade de nutrientes as PGPR, operam como reguladores de crescimento vegetal (VEJAN et al., 2016). Estes microrganismos tem a capacidade de aumentar a concentração de hormônios reguladores de crescimento vegetal como AIA (ácido indolacético), GA (giberelina), citocinina e etileno. Também atuam na produção de enzimas de proteção, compostos orgânicos voláteis (VOCs), associado a melhoria do crescimento da planta, resistência sistêmica à patógenos e ainda secretam sideróforos que atuam como quelantes de Fe^{3+} (VEJAN et al., 2016; ROMAGNOLI; ANDREOTI, 2016).

As PGPRs podem ser empregadas na agricultura como bioinoculantes (REIS, 2007). Vejan et al., (2016) aponta que as PGPRs desempenham papel benéfico na rizosfera, promovendo o crescimento vegetal, disponibilizando nutrientes importantes como o nitrogênio, fósforo e potássio para a planta, além de inibir o crescimento de fitopatógenos. Desta forma, estes microrganismos se apresentam como uma ferramenta adequada, podendo contribuir para uma agricultura mais sustentável (VEJAN et al., 2016).

Reis (2007) aponta que os inoculantes, podem ser descritos como a aplicação de microrganismos vivos em culturas com o objetivo de promover o crescimento da planta. Em gramíneas se destaca o uso do gênero *Azospirillum*, mas os inoculantes são utilizados principalmente em leguminosas como soja e feijão (REIS, 2007).

Costa et al. (2015) analisou os efeitos do inoculante com estirpes de *Azospirillum brasilense* na cultura de milho segunda safra. Os tratamentos consistiam na utilização do inoculante durante o plantio, sendo: semente sem inoculante, com inoculante e inoculante pulverizado no estágio fenológico V4, também foi utilizado cinco doses de adubo nitrogenado que correspondiam a 0%, 25%, 50%, 75% e 100%.

Os resultados foram satisfatórios para o crescimento em altura das plantas inoculadas na semente, também houve um aumento de 36% na produtividade comparado com o tratamento sem adubo nitrogenado, ainda os resultados mostraram que a associação entre inoculantes e adubação nitrogenada não mostrou efeito sobre o crescimento da planta, foram significativos apenas para massa de 1.000 grãos e produtividade de grãos (Kg ha^{-1}).

Também Roberto, Silva e Lobato (2010), testaram a eficiência do inoculante contendo bactérias da espécie *Azospirillum brasilense* com diferentes doses na cultura do milho. O experimento foi realizado no município de Araxá – MG, no ano de 2010, as doses aplicadas foram baseadas na recomendação do fabricante sendo os tratamentos com 0% (testemunha), 25%, 50%, 75% e 100% da dose recomendada, os resultados obtidos para matéria verde da parte aérea e matéria seca da raiz, os tratamentos com 50%, 75% e 100% da dose recomendada provocaram efeitos positivos, concluindo que metade da dose recomendada é suficiente para o desenvolvimento inicial da planta.

Contudo, as interações microbianas são complexas e se complementam, portanto inoculantes com maior diversidade de microrganismos tendem a se instalar mais facilmente no solo, além de atuar sobre o crescimento e desenvolvimento da planta (HIGA; PARR, 1994). Desta forma os microrganismo eficientes (EM) quando adicionados ao solo aumentam a diversidade e o número de microrganismos que atuam positivamente sobre a planta (TEIXEIRA; WITT; FILHO, 2017).

2.5 MICRORGANISMOS EFICIENTES (EM)

Ao postular os fundamentos da agricultura orgânica, Sir Albert Howard, já mencionava a respeito da importância da saúde do solo e a relação da mesma com a saúde das plantas e conseqüentemente com quem as consomem (EHLERS, 1999). Sabe-se que solo não corresponde apenas a uma parte inanimada dos sistemas terrestres, mas sim, se relaciona com outros compartimentos do ecossistema, influenciando e sofrendo influência, o equilíbrio dessas relações determina a sustentação da vida no planeta (EMBAPA, 2019).

Em 1991 o Dr. Teruo Higa, professor da Universidade de Ryukyus no Japão, sugeriu que a combinação de alguns desses microrganismos benéficos fossem referidos como Microrganismo eficientes (*effective microorganisms* – EM) (HIGA; PARR, 1994). Os microrganismos eficientes podem ser definidos como uma cultura mista de microrganismos benéficos que podem ser utilizados como inoculantes, a fim de aumentara diversidade microbiana das solos (HIGA; PARR, 1994; BONFIM et al., 2011; TEIXEIRA; WITT; FILHO, 2017) No Brasil foi introduzido entre os praticantes da Agricultura Natural, no qual os primeiros experimentos ocorreram na Fundação Monkiti Okada, em São Paulo (Bonfim et al., 2011).

O princípio dos Microrganismos Eficientes (EM) está ligado a ativação e enriquecimento de determinados microrganismos autóctones do solo, formado principalmente por bactérias do ácido láctico, leveduras e bactérias fototróficas (EMRO, 2019). Assim as bactérias fotossintéticas trabalham sinergicamente com outros microrganismos para fornecer a exigência nutricional à planta e também reduzir o problema com doença (CÓNDOR-GOLEC; PÉREZ; LOKARE, 2013).

Segundo Bonfim et al. (2011) os EMs são formados por quatro grupos de microrganismos, mas Córdor-Golec, Pérez e Lokare, (2013) citam ainda um quinto grupo de microrganismos, demonstrado na tabela 2.

Tabela 2. Grupos que compõem os EM e suas funções.

Composição dos EM	Função
Leveduras	Sintetizam vitaminas e ativam outros microrganismos do solo, produzem substâncias bioativas, como hormônios.
Actinomicetos	Aumentam a resistência das plantas, produzem substâncias antimicrobiana suprimindo fungos e bactérias prejudiciais;
Bactérias lácticas	Sintetizam substâncias antimicrobianas entre elas o ácido láctico, ajudam a combater microrganismos prejudiciais, aumentam a decomposição da matéria orgânica e favorecem a solubilização do fosfato;
Bactérias fotossintéticas	Sintetizam aminoácidos, ácidos nucléicos, sustâncias bioativas e açúcares favorecendo o crescimento das plantas.
Fungos fermentadores	Decompõe a matéria orgânica produzindo álcool, ésteres e substâncias antimicrobiana, prevenindo a infestação de insetos e vermes.

Fonte: elaborado a partir de Bonfim et al. (2011) e Córdor-Golec, Pérez e Lokare, (2013).

Assim, Khaliq e colaboradores (2006) testaram o inoculante com EM, em Faisalabad no Paquistão para determinar os efeitos do uso integrado de fonte de nutrientes orgânicas e inorgânicas na cultura de algodão, os resultados mostrando que a utilização dos microrganismos eficientes otimiza a utilização de fertilizantes químicos reduzindo os custos de produção. Concluindo que o uso de inóculo de EMs juntamente com matéria orgânica e inorgânica é uma técnica eficaz para estimular o suprimento e liberação de nutrientes destas fontes (KHALIQ et al., 2006).

Em Viçosa – MG, Santos (2016) testou o efeito dos EMs sobre o crescimento e composição química o Capim-marandu (*Urochloa brizantha*), utilizando EMs de três origens diferentes em tratamentos com e sem esterco bovino. Os resultados demonstraram que os EMs podem atuar positivamente na cultura. Contudo, fatores como a origem dos EM, composição da comunidade microbiana e a presença ou não de matéria orgânica devem ser considerados pois podem influenciar diretamente neste resultados.

Com relação ao estudos sobre os efeito dos EMs em culturas vegetais no Brasil, pode-se citar Junior e colaboradores (1999) que comparam a ação dos EMs com a adubação química NPK na cultura do feijão em Pinhais no Paraná. O mesmo EM foi testado em seis diluições diferentes 1:250, 1:500, 1:750, 1:1.000, 1:1.250 e 1:1.500. O produto foi aplicado sobre as folhas com o espaço de tempo entre uma aplicação e outra de uma semana, depois quinzenalmente e por fim mensalmente. Os resultados obtidos não foram significativos quanto ao uso de EMs

Mares Guia (2017) também avaliou os efeitos dos EMs sobre a cultura do milho-verde em associação com a adubação verde no estado de Minas Gerais. Foram utilizados tipos diferentes de cobertura, sendo elas o feijão-de-porco, crotalária juncea, mucuna preta e vegetação espontânea. Foram utilizados tratamentos com presença e ausência de EMs. Os resultados obtidos para este estudo foram satisfatórios, demonstrando a influência positiva dos EMs sobre o comprimento da espiga do milho nos tratamentos com a mucuna preta e a vegetação espontânea.

No entanto, estudos sobre o efeito dos EMs na cultura de milho orgânico são escassos. Teixeira, Witt e Filho (2017) testaram a aplicação dos EMs sobre as propriedade químicas do solo e sobre o desenvolvimento do milho sob condição de sistema orgânico de cultivo. E

Müller e Meinerz (2011) utilizaram os EMs como inoculantes de semente no sistema de produção orgânico.

Os poucos trabalhos realizados com milho (*Zea mays* L.) orgânico demonstram a necessidade de pesquisas neste âmbito (CRUZ et al., 2006). Santos (2016) afirma que além de ser uma tecnologia que abrange as dimensões ambientais e econômicas, os EM compreendem em uma tecnologia social, uma vez que atendem à pequenos produtores sendo uma técnica simples e barata.

Percebendo a tendência mundial no desenvolvimento da agricultura sustentável, a necessidade de pesquisas sobre novas tecnologias que contribuam para o seu progresso e a importância das culturas de grãos orgânicos na região do sudoeste do Paraná, é necessário compreender os efeitos da utilização de microrganismos eficientes na cultura do milho orgânico que ainda não estão esclarecidas.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos dos microrganismos eficientes (EM) caseiros de diferentes locais de origem e comercial sobre desenvolvimento do milho (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé orgânico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Isolar os fungos e as bactérias dos preparos de EM;
- ✓ Quantificar a comunidade de fungos e bactérias cultiváveis dos EM;
- ✓ Avaliar o efeito dos diferentes preparos de EM sobre a altura da planta e comprimento de raízes do milho;
- ✓ Quantificar massa fresca e massa seca de raízes e parte aérea do milho submetidos à tratamentos utilizando EM caseiro de diferentes locais de origem e EM comercial.

4 METODOLOGIA

4.1 PREPARO DOS MICRORGANISMOS EFICIENTES

Os microrganismos eficientes (EM) utilizados neste trabalho foram produzidos de forma caseira atentando-se às condições que reais da utilização em campo pelos agricultores para tanto utilizou-se duas formas de preparo.

A primeira seguiu o método proposto por Bonfim e colaboradores (2011), no qual 700g de arroz cozido sem sal e sem tempero foi colocado em uma garrafa de plástico cortada ao meio e disposto em um local na mata, conforme a figura 8, por oito dias. Após a captura dos microrganismos eficientes (EM) o arroz colonizado foi dividido em cinco garrafas plásticas, acrescentado 200g de açúcar mascavo e acrescentado água até completar o volume de 2 litros. As garrafas foram fechadas para que ocorresse o processo fermentativo e o gás foi liberado diariamente por 14 dias, quando a formação de gás cessou e a cultura de EM estava pronta.

O segundo método foi uma adaptação à metodologia de Bonfim e colaboradores (2011) durante a etapa de coleta dos microrganismos eficientes sugerido por Villela (2017). No qual o solo foi coletado da mata e foram preparadas “iscas” utilizando caixas plásticas em um ambiente mais controlado.

4.1.1 Locais de coleta

As coletas dos microrganismos eficientes (EM) ocorreram em três locais diferentes. Optou-se por comparar a atuação dos EM oriundos de três locais de coleta diferentes aplicados sobre a cultura do milho, afim de verificar possíveis variações nas comunidades de EM quanto a origem do material amostrado.

Para o EM 1, foi coletado o solo da mata da Trilha Ecológica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, no município de Dois Vizinhos (25° 41' 51" S e 53° 05' 59" O). A coleta do solo para captura do EM 2 ocorreu em uma área de preservação permanente em uma propriedade rural (propriedade A) no distrito de Iolópolis, município de São Jorge d'Oeste – PR (25° 39' 45" S e 52° 53' 11" O), e para o EM 3 foi coletado o solo de uma área reserva legal de uma propriedade rural (propriedade B) também localizado no distrito de

Iolópolis no do município de São Jorge d'Oeste (25° 39' 23" S e 52° 52' 37" O). Na propriedade A também foi o local de origem do EMBON (Figura 8).

Figura 8 – Locais de coleta do solo da mata. A) local de coleta EM 1, trilha ecológica da UTFPR – DV no município de Dois Vizinhos – PR; B) local de coleta EM 2 e instalação das iscas EMBON, área de preservação permanente propriedade A, no município de São Jorge d'Oeste – PR; C) local de coleta EM 3, reserva legal propriedade B, município de São Jorge d'Oeste – PR.



Fonte: Google DigitalGlobe (2019).

4.1.2 Coleta de microrganismos eficientes (EM) método Bonfim e colaboradores (2011).

Para a coleta do EMBON 700g de arroz cozido sem sal e se tempero foi colocado em uma garrafa pet cortada ao meio e colocado sob solo da mata e coberto por serapilheira, devido às condições climáticas, as iscas foram retiradas após oito dias da instalação (figura 9).

Figura 9 – Captura EMBON.



Fonte: a autora.

4.1.3 Coleta dos microrganismos eficientes (EM) método adaptado por Villela (2017).

Para o preparo dos EM que seguiram o método adaptado ao de Bonfim e colaboradores (2011) por Villela (2017) primeiro foi realizado a coleta do solo e da serapilheira com auxílio de um rastelo de jardim e enxada. Para tanto foram selecionados locais na mata em que a serapilheira estava em estado mais avançado de degradação, além de se possível observar a presença fungos filamentosos como observado na figura 8. Com o auxílio do rastelo de jardim a serapilheira foi separada do solo, retirada e armazenada em sacos plásticos. Posteriormente, o solo foi retirado com auxílio da enxada e também armazenado em sacos plásticos como na figura 10.

Figura 10 – A) Exemplo de serapilheira selecionada para a coleta na mata; B) Exemplo de armazenamento da serapilheira em sacos plásticos.



Fonte: a autora.

Após realizadas as coletas do solo e da serapilheira da mata em cada um dos locais, iniciou-se a montagem das “iscas” para captura dos EM, a montagem ocorreu no dia 19 de abril de 2019. As “iscas” foram montadas em caixa organizadora de plástico com capacidade para 12 litros, foram utilizadas três caixas cada uma devidamente identificada (EM 1, EM 2, EM 3) com seus respectivos locais de coleta, data de coleta e de instalação.

Com as caixas identificadas foi realizado a assepsia das mesmas com o auxílio de álcool 70%, após iniciou-se a montagem das “iscas”. Primeiramente foi colocado uma camada de solo de aproximadamente 3 cm cobrindo todo o fundo da caixa, depois o solo foi coberto com um pano de algodão previamente escaldado em água fervente por aproximadamente 5 minutos.

Em seguida foi colocado uma camada de 700 g de arroz cozido sem sal e sem tempero que serviu como substrato para a captura dos EM conforme Bonfim et al. (2011). Assim, o arroz foi coberto por um pano de algodão previamente escaldado e a serapilheira foi colocada em cima até completar a capacidade máxima da caixa, por último a caixa foi vedada com uma

fralda de pano, para evitar a entrada de mosca e outros insetos. Após cinco dias de incubação, os EM já haviam colonizado o arroz, conforme pode ser observado na figura 11.

Figura 11 – Etapas para a coleta dos EM método adaptado de Bonfim e colaboradores (2011) sugerido por Villela (2017).



Fonte: a autora.

4.1.3.1 Multiplicação dos EM

Esta etapa ocorreu apenas para os EM coletados em caixas plásticas. Para a multiplicação dos EM, o arroz inoculado de cada uma das caixas foi colocado em um novo recipiente devidamente identificados e misturado à 200g de açúcar mascavo em cada recipiente. A fim de evitar a entrada de moscas e outros insetos, os três recipientes foram recobertos com plástico filme e foram feitos furos permitindo a entrada de oxigênio. Esta etapa teve duração de 10 dias.

4.1.4 Ativação dos EM

Esta etapa ocorreu para todos os EM capturados. A etapa de ativação dos EM foi realizada após a captura dos EM uma vez que as diferentes comunidades de microrganismos devem coexistir em meio líquido. Os EM obtidos foram divididos em cinco parcelas e acondicionadas em garrafas de plástico descartáveis de 2 litros previamente limpas e esterilizadas com álcool 70%. As garrafas foram identificadas, e posteriormente acrescentado

200 g de açúcar mascavo em cada garrafa. Volume das garrafas foi completado com água filtrada e não clorada para um volume final de 1800 mL. O gás formado pela fermentação foi liberado diariamente. Os microrganismos eficientes estavam prontos quando cessou a formação de gás e o pH das soluções estavam entre os valores de 3,2 e 3,5.

4.1.5 Preparo dos microrganismos eficientes comerciais

Foram preparados dois litros de EMCOM, seguindo as recomendações do fabricante para a ativação destes microrganismos. Para tanto 5% de EM-1® mais 5% de melaço de cana foram misturados em 90% de água limpa sem cloro em uma garrafa plástica, que foi fechada e homogeneizada, a solução foi deixada fermentar por sete dias ficando pronta para o uso.

Figura 12 – Preparo EM comercial.



Fonte: a autora.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido na casa de vegetação com temperatura ajustada à 25° C, localizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV). O modelo vegetal adotado foi o milho híbrido (*Zea mays* L.) orgânico, variedade BRS Caimbé de ciclo precoce, desenvolvida para a agricultura familiar (PACHECO et al., 2009), as sementes foram doadas pela empresa GEBANA BRASIL localizada no município de Capanema - PR.

Os tratamentos seguiram delineamento experimental inteiramente casualizado, com desenho fatorial sendo a presença e ausência de microrganismos eficientes (EM) oriundos de diferentes locais de coleta (EM 1: trilha ecológica UTFPR-DV; EM 2: reserva propriedade rural A; EM 3: reserva propriedade rural B, ambas as reservas das propriedades A e B estão

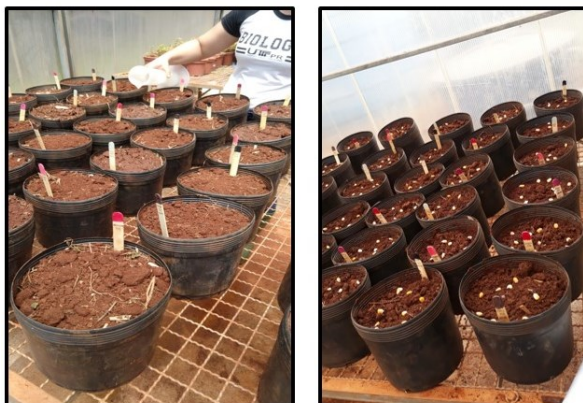
localizadas no município de São Jorge d'Oeste – PR) preparados a partir de adaptações da metodologia proposta por Bonfim et al. (2011), e EMBOM coletado da propriedade A segundo a metodologia de Bonfim et al. (2011) com cinco repetições para cada tratamento. Também foi realizado tratamento utilizando EM comercial o qual foi comprado da empresa Emagritec Sul® conforme a tabela 3.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados neste estudo.

Amostra	Descrição
EM0	Sem solução de microrganismos eficientes.
EM1	Solução EM1, adaptado Bonfim et al. (2011)
EM2	Solução EM2, adaptado Bonfim et al. (2011).
EM3	Solução EM3, adaptado Bonfim et al. (2011)
EMBON	Solução EMBON, método Bonfim et al. (2011).
EMCOM	EM comercializados pela empresa Emagritec Sul®.

Para a montagem do experimento, o solo utilizado foi coletado de uma área agrícola da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR). A montagem dos vasos e instalação do experimento ocorreu no dia 11 de outubro de 2019. Vasos com capacidade de 3 litros foram lavados e completados com solo até a sua capacidade máxima, após receberam identificação conforme o tratamento utilizado. Na mesma data foi realizada a primeira aplicação das soluções de microrganismos eficientes (EM) (figura 13) diluídos na proporção 1:1000, segundo as recomendações de Bonfim e colaboradores (2011). Nesta primeira aplicação cada vaso recebeu 600ml de EM dissolvido em água, este processo foi realizado para cada um dos quatro preparos de EM, o tratamento controle recebeu o mesmo volume de água.

Figura 13 – Vasos recebendo a primeira dose do inoculante EM. Plantio das sementes de milho.



Fonte: a autora.

Decorridos sete dias os vasos receberam 10 sementes de milho cada, que foram plantadas na profundidade de 5 cm, e novamente os vasos receberam as soluções de EM segundo as recomendações de Bonfim et al. (2011), o qual cada vaso em cada tratamento recebeu um volume de 500ml de EM dissolvido. O tratamento controle recebeu o mesmo volume de água.

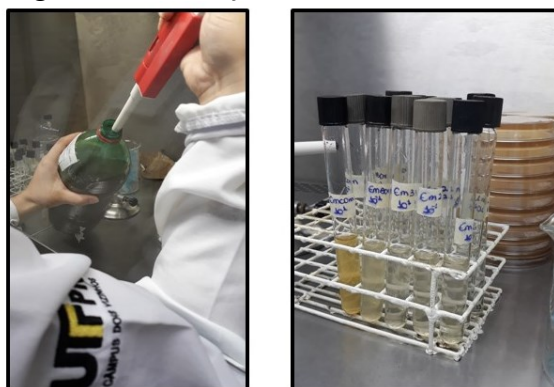
Decorridos sete dias do plantio cada vaso recebeu 500ml de EM dissolvido (volume necessário para atingir o ponto de escorrimento), nesta ocasião algumas plantas já haviam emergido. Após quinze dias do plantio a quarta e última aplicação de EM foi realizada, cada vaso recebeu 500ml de EM dissolvido.

4.3 CONTAGEM E ISOLAMENTO DE FUNGOS E BACTÉRIAS PROVENIENTES DAS SOLUÇÕES DE EM

As culturas de microrganismos eficientes (EM) foram submetidas às técnicas de isolamento e contagem de células microbianas viáveis por meio de plaqueamento. O isolamento de fungos foi realizado em meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar – Difco) + Cloranfenicol (0,05g/L) e de bactérias em meio de cultura Ágar nutriente + Cetaconazol (0,05mg/mL) e MRSA (Ágar de Man, Rogosa e Sharpe) específico para bactérias ácido-láticas.

Os diferentes tipos de EM, foram submetidos a uma diluição seriada em solução salina a 0,9% (figura 14). Após a realização da diluição seriada foi realizada a semeadura em placas de Petri com meio de cultura BDA (fungos), Caldo nutriente (bactérias) e MRSA (bactérias ácido-láticas), a semeadura foi realizada em triplicata e foram incubadas a 25°C por 48 horas (bactérias) e 5-7 dias (fungos). Após esse período foi feita a contagem das unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) sendo que as placas com 30-300 colônias foram usadas para a contagem, no qual foi retirada a média e o desvio padrão.

Figura 14 – Diluição das culturas de EM.



Fonte: a autora.

4.4 DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

4.4.1 Altura das plantas

Ao final de 25 dias da data do plantio as plantas foram submetidas a análise de desenvolvimento, para tanto foi determinado a altura das plantas com o auxílio de fita métrica graduada, foi determinado como padrão o comprimento da base do colmo até a ponta da última folha do colmo.

4.4.2 Comprimento de raízes

O comprimento de raiz foi medido após a coleta, as raízes foram lavadas com água e medidas com auxílio de fita métrica graduada. As médias dos valores obtidos em cada tratamento foram submetidos a análise de variância.

4.4.3 Massa fresca e massa seca de raízes e parte aérea

Para a determinação da massa fresca da parte aérea, as plantas foram cortadas ao nível do solo e pesada. Depois acondicionadas em sacos de papel kraft previamente identificados e levadas para secagem em estufa a 55° C por 48 horas, depois foi realizado a pesagem em balança de precisão para a determinação da massa seca.

Para a determinação da massa fresca das raízes, elas foram lavadas e pesadas em balança analítica. Após serem colocadas em sacos de papel identificados foram levados a

secagem em estufa a 55°C até manter o peso constante, depois foi realizada a pesagem novamente em balança de precisão.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de quantificação microbiana e os parâmetros de desenvolvimento da planta foram submetidos a análise estatística no programa R 3.6.1.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONTAGEM E ISOLAMENTO MICROBIANO

As culturas de EM foram submetidas a contagem microbiana. Para as bactérias totais houve diferença significativa entre todos os preparos de EM ($p < 0,05\%$) sendo que o EMCOM teve a maior contagem de células viáveis. Para bactérias produtoras de ácido lático, o maior número de UFC/ml encontrado também foi no preparo comercial, seguido dos preparos EM1 e EMBON que não diferiram significativamente ($p > 0,05\%$). Já para a contagem de fungos, o EMBON obteve a maior número de células viáveis, os preparos EM1 e EMCOM tiveram a segunda maior média e, por fim, os preparos EM2, EM3 e EMBON não diferiram entre si ($p > 0,05\%$), (Tabela 3).

Tabela 4. Contagem de microrganismos viáveis (bactérias totais, lácticas e fungos) a partir de microrganismos eficientes (EM) de diferentes locais de origem preparados em laboratório, além de um microrganismos eficiente adquirido em empresa.

EM	Bactérias totais Log(UFC/ml)	Bactérias lácticas Log(UFC/ml)	Fungos Log(UFC/ml)
1	5,27±0,06 c*	5,33 ± 0,05 b*	4,04±0,08 b*
2	6,22±0,09 b	5,05 ± 0,04 c	4,78± 0,94a
3	4,01±0,12 d	4,25± 0,10 d	5,07 ± 0,03a
BOM	3,74±0,09 e	5,30 ± 0,05b	5,30±0,05a
COM	8,29 ± 0,09 a	8,45 ± 0,09a	3,94±0,14 b
CV**	1,72	1,24	9,25
(λ)***			2,875

*Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). ** CV: Coeficiente de variação. *** Variável com valor de λ presente demonstra que os dados foram transformados por Box e Cox (1964).

Originalmente Higa e Parr (1994) descreveram que as culturas de microrganismos eficientes são formadas por diferentes grupos de microrganismos encontrados no solo, sendo eles as bactérias ácido lácticas, as leveduras, as bactérias fotoautotróficas, os fungos fermentadores e os actinomicetos. Adicionalmente, a microbiota do solo é muito variável, uma vez que o solo não pode ser considerado como um ambiente único e homogêneo. Este ambiente está sujeito a fatores bióticos e abióticos que interferem na comunidade microbiana em cada parcela do solo (FIERER, 2017).

Diante do exposto, é possível que o local de origem dos EM influencie na composição e abundância dos grupos microbianos. Neste trabalho, por exemplo, foi verificada variação entre os preparos de EMs, no que diz respeito a estimativa de microrganismos viáveis (UFC/ml) para bactérias totais, bactérias ácido lácticas e fungos totais. No que se refere a

contagem de bactérias totais todos os preparos de EM diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05\%$), sendo que o EMCOM apresentou a maior média de UFC/ml e o EMBON a menor média (Tabela 3). Adicionalmente, a contagem de bactérias totais pode ser influenciada pelo método de coleta, uma vez que há diferença significativa entre o EM2 e o EMBON coletados do mesmo local mas seguindo métodos de coleta diferenciados, no qual o EMBON foi coletado diretamente da mata e para o EM2 o solo da mata foi coletado e as iscas montadas em caixas plásticas evitando variáveis como chuva e ataque de animais, por exemplo.

A partir dos dados de quantificação é possível observar uma prevalência da comunidade bacteriana nas culturas analisadas exceto para o EM3, no qual a contagem de fungos foi maior. A prevalência de bactéria também foi observada por Bomfim (2016) a partir de isolamentos e quantificação do biofertilizante HortBio® desenvolvido pela Embrapa, este biofertilizante leva em sua composição microrganismos eficientes (EM) como inoculante. Com o intuito de compreender as comunidades microbianas encontradas neste biofertilizante, Bomfim (2016) realizou a sua avaliação metagenômica, observando o predomínio de grupos bacterianos, sobretudo do filo Firmicutes.

Bactérias do filo Firmicutes são encontradas no solo de modo habitual (CARDOSO; ANDREOTI, 2016), e desempenham importantes funções de interesse agrícola. Predomínio do gênero *Bacillus* foi observado por Bomfim (2016), espécies desse gênero são amplamente relatados como promotores de crescimento vegetal pois são capazes de sintetizar fitohormônios como as auxinas (BATISTA, 2017) que atuam no desenvolvimento e crescimento das plantas (JORDÁN; CASARETTO, 2006). Outro importante gênero relatado é o *Lactococcus*, bactérias deste gênero produzem substâncias antimicrobinas, entre elas o ácido láctico, que contribuem para a supressão de agentes patogênicos (BOMFIM, 2016).

Bomfim (2016) relata a incidência do filo Proteobacteria, Actinomicetos e em número muito inferior Bacteroides. Em um estudo similar, Santos (2016) buscou caracterizar a comunidade microbiana de EM de origem caseira e comercial, os resultados apontam que os três EM analisados compartilharam os filios Actinobacterias, Proteobacteria, Synergistetes, além do filo Firmicutes. Em ambos os trabalhos é possível verificar o predomínio de comunidades bacterianas em relação a comunidade fúngica, além de verificar alguns gêneros bacterianos prevalentes em todos os EM avaliados (*core* microbiano). Sendo este *core* microbiano composto basicamente por microrganismos do gênero *Bacillus*, *Streptomyces*, e *Staphylococcus*. Contudo, Santos (2016) não observou a presença de fungos por meio da metagenômica no EM comercial. E, ainda, com relação a esta comunidade fúngica não foi

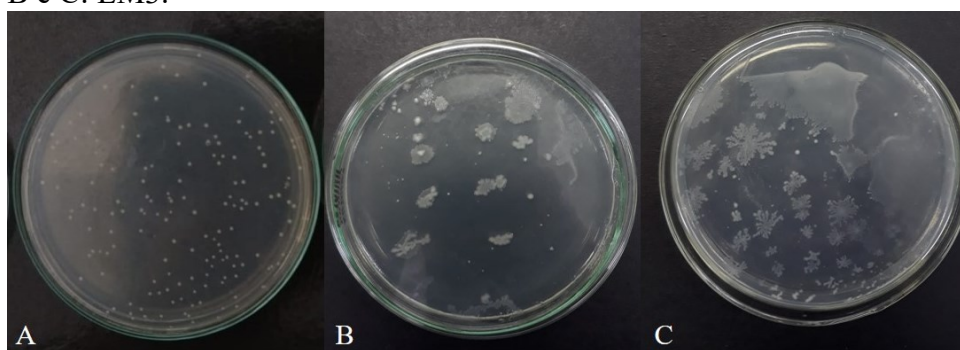
observada o compartilhamento de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) entre os EM caseiros coletados.

Desta forma é possível constatar que apesar de poucos estudos sobre as comunidades microbianas que compõem os EM observa-se que fatores como tipo de coleta e solo de origem influenciam a composição dos EM.

Assim como EM comercial, o EM2 e o EM1 mantiveram um predomínio de bactérias totais e ácido lácticas. Higa e Part (1994) apontam que as culturas de microrganismos eficientes são compostos principalmente por bactérias ácido lácticas. Essas bactérias possuem funções biotecnológicas importantes aplicadas a agricultura pois produzem antibiomas e atuam decompondo a matéria orgânica (BONFIM et al., 2011; CONDOR-GOLEC; PÉREZ; LOKARE, 2013). O ácido láctico produzido por essas bactérias atuam na solubilização do fosfato (MENDES; JÚNIOR, 2003) nutriente importante para o crescimento e desenvolvimento de plantas (GRANT et al., 2001).

Quanto a contagem fúngica os EM2, EM3 e EMBON não diferiram significativamente entre si, mas diferiram do EM1 e EMCOM que tiveram o menor predomínio de comunidades fúngicas na sua composição. É importante destacar que a contagem fúngica do EM3 foi superior a contagem de bactérias totais e bactérias ácido lácticas, fato que ocorreu apenas nessa cultura de EM dentre todas as outras preparadas. Além de diferenças nas contagens microbianas entre os grupos de EM, foram encontradas diferenças morfológicas nos microrganismos isolados, conforme a figura 15. Foi possível verificar um predomínio entre os EM isolados da morfologia demonstrado pelo EM2 na figura 1, apenas a cultura EM3 apresentou um padrão morfológico diferente do encontrado nos demais EM preparados, o que dificultou a contagem das colônias.

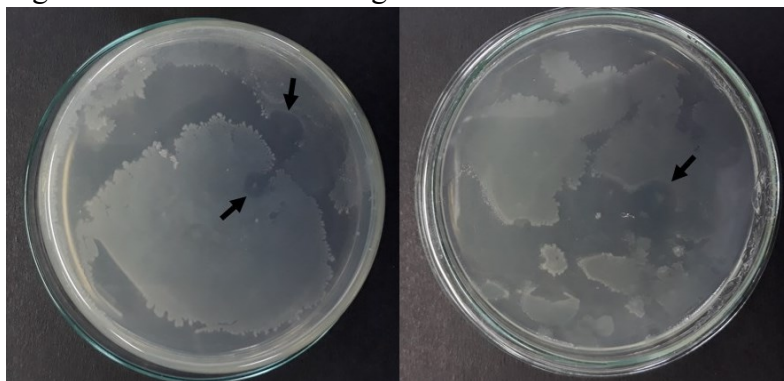
Figura 15. Diferenças morfológicas encontradas nas comunidades de EM em Ágar nutriente. A) EM2; B e C: EM3.



Fonte: autoria própria.

Ao fazer a contagem do EM3 foram observado isolados bacterianos que apresentavam antagonismos entre si, na figura 16 é possível verificar a atividade de antagonismo, as flechas apontam a formação de halo de inibição.

Figura 16. Atividade de antagonismo em isolados de EM3.



Fonte: autoria própria.

Como já relatado a composição dos EM pode ser variável a depender do local de coleta, mas mantem comunidades centrais (BOMFIM, 2016; SANTOS, 2016), capazes de sintetizar antimicrobianos como algumas bactérias do gênero *Bacillus* e as Actinobactérias (BARKA et al., 2015). Estes antimicrobianos são de grande importância agrônômica e devem ser explorados como um mecanismo de ação contra patógenos que afetam as principais culturas, buscando assim propiciar meios sustentáveis substituindo tratamentos químicos nas lavouras pela utilização de produtos biológicos.

Neste sentido Dourado (2016) realizou o teste de sanidade do tipo “blotter” com sementes de milho tratadas com diferentes concentrações de EM, as culturas também foram filtradas a fim de se obter apenas os metabólitos produzidos pelas comunidades microbianas, os resultados foram promissores mostrando que tanto os EM quanto seus metabólitos na concentração de 100% diminuiu a incidência de fungos fitopatogênicos nas sementes de milho entre 67% a 21% comparadas com o controle. Ainda, o mesmo estudo isolou os microrganismos não patogênicos encontradas nas sementes de milho tratadas e realizou um teste de culturas pareadas com *Fusarium verticillioides*, de 42 isolados das sementes tratadas com EM 21 reduziram o crescimento micelial do *F. verticillioides* a partir de mecanismos de antagonismo, competição e antibiose.

5.2 DESENVOLVIMENTO VEGETAL

A utilização de diferentes preparos de culturas de microrganismos eficientes (EM) aplicados na proporção 1:1000 com uma aplicação sete dias antes do plantio e três aplicações a cada sete dias pelo período de três semanas a partir da sementeira, mostrou diferença significativa apenas para comprimento de raiz, conforme a tabela 1, para os demais parâmetros não houve diferença significativa entre os tratamentos após 25 dias do plantio. As plantas que receberam tratamento com EM1 não foram incluídos nos resultados, pois as parcelas não apresentavam homogeneidade.

Tabela 5. Altura (cm), comprimento de raiz (cm) massa de material frescas e secas de partes aéreas e raízes de plantas de milho submetidas a diferentes aplicações de microrganismos eficientes (EM).

EM	Altura de planta (cm)	Comp. raiz (cm)	MMF aérea (g)	MMF raiz(g)	MMS aérea (g)	MMS raiz (g)
0	72,10±0,8 ^{ns}	47,74 ±5,0bc*	9,91±3,4 ^{ns}	1,15±0,4 ^{ns}	2,60±0,9 ^{ns}	0,37±0,1 ^{ns}
2	80,02±5,0	51,18 ± 3,4ab	10,11±2,3	1,04±0,3	2,54±0,4	0,43±0,1
3	80,78±1,5	59,03± 3,2a	8,05±1,8	1,21±0,3	2,12±0,4	0,45±0,1
BON	77,04±5,5	40,78±4,0 c	9,85±2,0	0,83±0,2	2,46±0,7	0,35±0,1
COM	72,38±5,0	53,2 ±6,0ab	13,72±4,0	1,12±0,5	2,46±0,5	0,43±0,1
CV**	7,32	11,71	8,23	40,16	33,51	36,52
box-cox (λ) ^{***}			-0.5			

*Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$).

** CV: Coeficiente de variação. *** Variável com valor de λ presente demonstra que os dados foram transformados.

Pode-se observar que as plantas tratadas com o EM3 obtiveram o maior efeito sobre o sistema radicular, comparado com demais tratamentos, sendo que o aumento em relação ao controle foi de 23,64% (tabela 2), isso pode ser explicado pelo fato de que os microrganismos eficientes produzem diferentes metabólitos durante o processo de fermentação entre eles vitaminas, hormônios, e substâncias bioativas (HIGA, 2000), esses compostos, podem ser utilizados pelas plantas ativando o crescimento radicular (BONFIM et al., 2011). Moreira (2004) aponta que o sistema radicular pode determinar a capacidade de absorção de água e nutrientes pela planta, fator determinante para o seu desenvolvimento e produtividade.

Esses dados foram obtidos após 25 dias do plantio, tendo em vista que apenas os valores para comprimento de raiz foram significativos, percebe-se a necessidade de experimentos com maior duração com o objetivo de melhorar a resolução do experimento, uma vez que para a maioria dos parâmetros analisados os tratamentos com EM2, EM3 e

EMCOM obteve-se uma média maior que o controle, da mesma forma para o comprimento da raiz no qual o EMCOM obteve um aumento de 11,43% em relação ao controle, contudo não houve diferença significativa entre estes tratamentos.

Tabela 6. Porcentagem do aumento do comprimento da raiz em relação ao controle.

EM	Comp. raiz (cm)	% de aumento
0	47,74 bc*	-
2	51,18 ab	7,21
3	59,03 a	23,64
BON	40,78 c	-14,57
COM	53,2 ab	11,43
CV**	11,71	

*Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). ** CV: Coeficiente de variação.

Dados semelhantes foram descritos por Teixeira, Witt e Filho (2017) sobre o comprimento da raiz em um estudo com milho, realizando um ensaio a campo no qual doses de microrganismos eficientes, produzidos pela Fundação Mokiti Okada na concentração de 0,1% (concentração maior que a utilizada neste estudo) foram utilizados, os autores apontam um aumento de 32,22% no comprimento da raiz após 30 dias da instalação do ensaio.

Quando observamos o tratamento utilizando EMBON notamos uma diminuição do comprimento da raiz em relação ao controle de 14,57%, esse efeito pode estar relacionado com a composição microbiana e bioquímica da cultura (SANTOS, 2016). Os resultados de quantificação apontam para uma quantidade inferior de comunidades bacterianas em relação ao padrão encontrado nos preparos EM 2 e EMCOM no qual as bactérias correspondiam a maior parcela de microrganismos das culturas. Adicionalmente, ao se comparar os tratamentos EMBON e EM2, ambos oriundos da mesma localidade (propriedade A) contudo utilizando-se métodos de coletas diferentes, percebe-se diferenças significativas no comprimento da raiz entre esses dois tratamentos, no qual o EMBOM apresentou uma diminuição do comprimento em relação ao controle, apontando que o método de coleta também pode interferir na diversidade microbiana destas comunidades e conseqüentemente nos metabólitos produzidos por estas comunidades, sendo assim o método adaptado para coleta de EM é mais indicado.

Estes resultados corroboram com os obtidos por Santos (2016) em que foram utilizados dois tipos de EMs preparados por agricultores e o comercial. Neste ensaio plantas de capim-marandu foram submetidas a tratamentos utilizando EM com e sem presença de esterco bovino em um solo com baixa quantidade de matéria orgânica, os resultados

apontaram que apenas o tratamento com um dos preparos de EM caseiro teve efeito significativo sobre o crescimento da planta, quando utilizado sem o esterco bovino.

O efeito do EM sobre os demais parâmetros não foi evidente estatisticamente ($P > 0,05\%$), mas em nenhum dos tratamentos as médias de altura ficaram abaixo do controle (Tabela 2). EM3 obteve a maior média de altura e o EMCOM a menor média. Apesar da maioria dos parâmetros analisados neste estudo não apresentarem diferenças significativas, a utilização de microrganismos eficientes em diversas espécies de plantas já foi relatada. Muthaura et al, (2010) por exemplo avaliou os efeitos da inoculação de microrganismos eficientes no desenvolvimento de *Amaranthus dubians* mostrando que o uso de EM contribuiu para o desenvolvimento da planta. Da mesma forma, Saldia et al., (2010) utilizaram a tecnologia EM na cultura do milho e analisou seu efeito sobre o crescimento, desenvolvimento e produtividade da cultura, a sua utilização aumentou a produtividade. Outros trabalhos, também, sugerem que o uso de EM pode melhorar a eficiência fotossintética e assim aumentar o rendimento da produção (CHANTAL et al., 2010; IRITI et al., 2019). Khaliq et al. (2006) não obteve resultados significativos ao utilizar EM sozinho, mas ao associar o uso de microrganismos eficientes e NPK reduziu o uso do fertilizante químico pela metade.

Neste estudo é possível perceber não apenas a quantidade de células viáveis de microrganismos pode interferir no desenvolvimento vegetativo do milho, como o solo de origem onde são multiplicados os EM, bem como a metodologia usada nesta captura. As interações que ocorrem após a inoculação de EM entre seus microrganismos e a planta não estão bem estabelecidos, é necessário mais estudos que apontem essas possíveis interações. Sabe-se que as interações que ocorrem na rizosfera entre plantas e microrganismos são complexas e sujeitas a vários fatores e as respostas de defesa da planta podem modificar a estrutura microbiana associada (TOJU et al., 2018). Por isso é necessário investigações moleculares que determine o core microbiano nas comunidades de EM buscando um aprimoramento dessa tecnologia para que possa ser empregado no setor agrícola de forma segura e fidedigna (CONDOR-GOLEC; PÉREZ; LOKARE, 2013).

6 CONCLUSÃO

Os microrganismos eficientes (EM) caseiros apresentaram efeito positivo significativo comprimento da raiz nas fases iniciais do desenvolvimento da planta, e superior ao preparo comercial. Isto demonstra que o preparo de EM representa uma alternativa viável à substituição de insumos químicos em propriedades rurais que buscam a sustentabilidade, da mesma forma que equivalem à uma importante ferramenta social, uma vez que sua produção pode ocorrer dentro das propriedades exigindo pouca mão-de-obra e baixo custo para a sua produção.

7 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

Sabendo que os microrganismos eficientes representam uma importante ferramenta para agricultura agroecológica e conseqüentemente para o desenvolvimento sustentável da agricultura algumas perspectivas de trabalhos são sugeridas como:

- A caracterização das comunidades de diferentes locais de origem dos EM preparados de maneira caseira, e a caracterização da comunidade rizosférica após a inoculação de EM com o intuito de identificar e determinar o *core* microbiano.
- Replanejar o experimento de desenvolvimento, buscando seguir novos protocolos de dosagem e tempo.
- Sabendo de todos os benefícios dos EM para as plantas são necessárias pesquisas que demonstrem a sua eficiência na defesa vegetal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRICULTURA orgânica: cenário brasileiro, tendências e expectativas. SEBRAE. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-que-e-agricultura-organica,69d9438af1c92410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso 09 de abr. de 2019.
- ALIMENTOS orgânicos renderam R\$ 4 bilhões a produtores brasileiros em 2018. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/mercado-brasileiro-de-organicos-fatura-r-4-bilhoes>. Acesso em: 05 abr. 2019.
- ALTIERI, Miguel A. Agroecology: The science of sustainable agriculture. 2. ed. CRC Press, 2018.
- ALVES, A. M. A reconstrução da domesticação do milho. Estudos Sócio-Antropológicos. 2017.
- ALVES, H. C. R.; AMARAL, R. F. do; Produção, área colhida e produtividade do milho no Nordeste. **Informe Rural ETENE**. n. 16. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/documents/88765/89729/ire_ano5_n16.pdf/bea61fe8-4c6d-4f02-ade4-21dcfd901fdf. Acesso em: 06 abr. 2019.
- ASSIS, R. L. de; ROMEIRO, A. R. Agroecologia e agricultura orgânica: controvérsias e tendências. Editora UFPR: Desenvolvimento e Meio Ambiente, n. 6, p. 67-80, 2002. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/made/article/view/22129/14493>. Acesso em: 04 abr. 2019.
- BARBIERI, Rosa Lía; STUMPF, Elisabeth Regina Tempel (ed.). Origem e evolução das plantas cultivadas. **Embrapa Informação Tecnológica**, 909 p., 2008. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/746617/origem-e-evolucao-de-plantas-cultivadas>. Acesso em: 04 de abr. 2019.
- BARKA, E. A. et al. Taxonomy, physiology and natural products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-43, 2015. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>.
- BARROS, I. de; MARTINS, C. R.; CINTRA, F. L. D. Intensificação Ecológica da Agricultura: uma opção para a preservação ambiental com lucratividade. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2011.
- BATISTA, Bruna Durante. Promoção de crescimento vegetal por *Bacillus* sp. RZ2MS9: do genes ao campo. 2017. Tese (Doutorado em Ciências: Genética e melhoramento de plantas) – Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2017.
- BENDER, S. F.; WAGG, C.; HEIJDEN, M. G. A. van der. Un Underground Revolution: Biodiversity and Soil Ecological Engineering for Agricultural Sustainability. **Trends in Ecology & Evolution**, vol. xx, 2016.
- BOMFIM, Catharine Abreu. Biofertilizante Hortbio®: Características microbiológicas e efeito na qualidade da alface. 2016. 136 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Microbiana) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília. 2016.

BONFIM, F. P. G. et al. Caderno dos microrganismos eficientes (EM): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. 2. ed. Universidade Federal de Viçosa: Departamento de Fitotecnia, 2011.

BRADY, N.C.; WEIL, R.R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 704 p.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTI, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221 p.

CARDOSO, E. J. B. N.; FEITAS, S. S. A rizosfera. 1992. Disponível em: http://www.esalq.usp.br/departamentos/lso/arquivos_aula/LSO_400%20LIVRO%20-%20MICROBIOLOGIA%20DO%20SOLO%20Cap%204.pdf. Acesso em: 03 maio 2019.

CIENTISTAS se baseiam em evidências genéticas e arqueológicas para uma nova versão da história do milho. Embrapa: Pesquisa, desenvolvimento e inovação, Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/40019246/cientistas-se-baseiam-em-evidencias-geneticas-e-arqueologicas-para-uma-nova-versao-da-historia-do-milho>. Acesso em: 02 maio 2019.

CHANTAL, K.; XIAOHOU, S.; WEIMU, W. Effects of effective microorganisms on yield and quality of vegetable cabbage comparatively to nitrogen and phosphorus fertilizers. **Pak. J. Nutr**, 2010, v. 9, 1039–1042.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Brasil). Acomp. safra bras. grãos, v. 12 Safra 2017/18 - Décimo segundo levantamento. Brasília, p. 1-148, setembro 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 05 abr. 2019.

_____. Grãos Série Histórica. Portal de Informações Agropecuárias. Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/index.php/safra-serie-historica-dashboard>. Acesso em: 05 abr. 2019.

CONCEIÇÃO, J. C. P. R. DA; CONCEIÇÃO, P. H. Z. DA. Agricultura: Evolução e importância para a balança comercial brasileira. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Brasília: Ipea, 2014. Disponível em: http://www.ipea.gov.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=22083. Acesso em: 23 de mar. 2019.

CÓNDOR_GOLEC, A. F.; PÉREZ, P. G.; LOKARE, C. Effective Microorganisms: Myth or reality?. **Ver. peru. biol**. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v14n2/a26v14n02>. Acesso em: 30 jan. 2019.

CONTINI, E.; MARTHA, Jr., G.B. Brazilian agriculture, its productivity and change. Bertebos Conference on “Food security and the futures of farms: 2020 and toward 2050”. Falkenberg: Royal Swedish Academy of Agriculture and Forestry, August 29-31, 2010.

CONSELHO BRASILEIRO DA PRODUÇÃO ORGÂNICA E SUSTENTÁVEL. Consumo de produtos orgânicos no Brasil: Primeira pesquisa nacional sobre o consumo de orgânicos. Disponível em: <https://organis.org.br/>. Acesso em: 09 de abr. 2019.

- COSTA, R.; QUIRINO, G.; NAVES, D.; SANTOS, C.; ROCHA, A. F. Eficiência de inoculante com *Azospirillum brasilense* no crescimento e produtividade de milho de segunda safra. *Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)*, v. 45, n. 3, 16 set. 2015
- CRUZ, J. C. et al. Produção de milho orgânico na agricultura familiar. Circular Técnica n. 81, EMBRAPA, Dez 2006. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/15429275.pdf>. Acesso em: 09 abr. 2019.
- DADOS sobre alimentação e agricultura. FAOSTAT. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em: 06 abr. 2019.
- DE-POLLI, H.; PIMENTEL, M S. Indicadores de Qualidade do Solo. In: A. M. de Aquino; R. L. de Assis. (Org.). *Processos Biológicos no Sistema Solo-Planta*. 01 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v. 01, p. 17-28. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/biotacap1ID-Lnm7OIMsPM.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2019.
- DIDONET, C. C. G. M.; FERREIRA, E. P. de B. Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal. In: OLIVEIRA, S. S. (org.). *Ciências moleculares* 2. v. 2. Anápolis: Universidade Estadual de Goiás, 2012. p. 91.
- DIONÍSIO, J. A. et al. Guia prático de biologia do solo. Curitiba: SBCS/NEPAR, 2016.
- DOURADO, E. da R. Microrganismos eficientes (EM) no tratamento de sementes de milho. 2016. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa. 2016.
- EHLERS, E. Agricultura sustentável: origens e perspectivas de um novo paradigma. 2. ed. Guaíba: Agropecuária, 1999.
- EMBRAPA. Visão 2030: o futuro da agricultura brasileira. EMBRAPA, 2018, 212 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/visao/o-futuro-da-agricultura-brasileira>. Acesso em: 22 de mar. 2019.
- FERRAZ, J.M.G. Indicadores de sustentabilidade em agroecossistemas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p.17-33.
- FIERER, N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nat Rev Microbiol*, 2017. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.87.
- FIERER, N. et al. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings fo the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 109, n. 52, p. 21390-21395, 26 dez. 2012. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/109/52/21390>. Acesso em: 01 jun. 2019.
- FILHO, Luiz Alves Feitosa. Indicadores de sustentabilidade da produção orgânica na agricultura familiar no sudoeste do Paraná. 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Rural Sustentável) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon. 2018. Disponível em: <http://tede.unioeste.br/handle/tede/3957>. Acesso em: 10 abr. 2019.

- GALINAT, W. C. Evolution of Corn. *Advances in Agronomy*, v. 47, p. 203-231, 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065211308604915>. Acesso em: 28 abr. 2019.
- GALLI, Fernando. *Microrganismos do solo*. Anais da E. S. A. Luiz de Queiroz, aula inaugural, 1964.
- GOMES, Ivair. Sustentabilidade social e ambiental na agricultura familiar. *Revista de Biologia e Ciências da terra*, v. 5, n. 1, 2004. Disponível em: <https://www.redalyc.org/html/500/50050107/>. Acesso em: 06 jun. 2019.
- GONZALEZ, B. C. DE R.; COSTA, S. M. A. DE L. Agricultura Brasileira: Modernização e desempenho. *Teor. Evid. Econ.*, v. 5, p. 7-35, 1998. Disponível em: http://cepeac.upf.br/download/rev_n10_1998_art1.pdf. Acesso em: 28 abr. 2019.
- GRANT, C.A. et al. A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. *Inf. Agron.*, Piracicaba, n. 95, p. 26-30, 2001.
- GUIA, A. P. de O. M. Produtividade de milho verde cultivado em sucessão a adubação verde com aplicação de microrganismos eficientes, nas condições de Matias Barbosa, MG. Dissertação (Mestra em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2018. Disponível em: <http://cursos.ufrjr.br/posgraduacao/ppgao/files/2018/09/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Ana-Paula-2018.pdf>. Acesso em: 05 maio 2019.
- HESPANHOL, R. Ap. de. Perspectivas da agricultura sustentável no Brasil. *Revista Franco-Brasileira de Geografia*. n. 2, 2008. Disponível em: <https://journals.openedition.org/confins/1103>. Acesso em: 06 jun. 2019.
- HIGA, T.; PARR, J. F. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. *International Nature Farming Research Center*, Japan, 1994. Disponível em: http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/em_for_sustainable_agriculture_environment.pdf. Acesso em: 11 abr. 2019.
- Higa T. What is EM technology? *EM World Journal*. 2000;1: 1-6.
- IRITI, M. Soil Application of Effective Microorganisms (EM) Maintains Leaf Photosynthetic Efficiency, Increases Seed Yield and Quality Traits of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Plants Grown on Different Substrates. *Int. J. Mol. Sci*, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20092327>.
- JORDAN, M.; CASARETTO, J. Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. En Squeo, F, A., & Cardemil, L. (eds.). *Fisiología Vegetal* (pp 1 - 28). La Serena: Ediciones Universidad La Serena. 2006.
- JUNIOR, F. B. R.; MENDES, I. de C. Biomassa microbiana do solo. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 40 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/572256/1/doc205.pdf>. Acesso em: 04 de jun. 2019.
- JÚNIOR, P. R.; BUFF, M. T. C.; KOEHLER, H. S. Microrganismos eficazes na produção e cultura do feijoeiro. *Braz. arch. biol. Technol.*, v. 42, n. 4, 1999. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89131999000400014. Acesso em: 02 maio 2019.

KHALIQ, A.; ABBASI, M. K.; HUSSAIN, T. Effects of integrated use of organic and inorganic nutrient sources with effective microorganisms (EM) on seed cotton yield in Pakistan. **Bioresource Technology**, v. 97, ed. 8, p. 967-972, maio 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852405002464?via%3Dihub>. Acesso em: 16 abr. 2019.

KISTLER, L. et al. Multiproxy evidence highlights a complex evolutionary legacy of maize in South America. **Science**, v. 362, p. 1309-1313, 2018. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/362/6420/1309/tab-figures-data>. Acesso em: 01 maio 2019.

KITAMURA, P. C. Agricultura Sustentável no Brasil: avanços e perspectivas. **Ciência e Ambiente**, n. 27, p. 7-28, jul.-dez. 2003.

LANDAU, E. C. et al. Áreas de Concentração da Produção Nacional de Milho no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28., 2010. Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 3750-3758. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/865346/1/0044.pdf>. Acesso em: 01 maio 2019.

LANGEVIN, M. S. O backstop brasileiro: a modernização da agricultura brasileira e a sua contribuição para o desenvolvimento nacional. **Revista Jurídica da Presidência**, v. 19, p. 454-488, 2018.

LEITE, D. C. de A. Efeito de diferentes tipos de biomassa carbonizada (biocarvão) na comunidade microbiana associada às rizosferas de plantas de arroz (*Oryza sativa*) cultivar BRSMG Curinga. Mestrado (Biotecnologia Vegetal) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. Fisiologia do Milho. Circular Técnica n. 22, EMBRAPA. Sete Lagoas, 2002.

MARQUELLI, Rodrigo Pedrosa. O Desenvolvimento sustentável da agricultura no cerrado brasileiro. 2003. Especialização (Gestão Sustentável da Agricultura Irrigada) – Instituto Superior de Administração e Economia, Brasília, 2003.

MAPA. Projeções do Agronegócio: Brasil 2017/18 a 2027/28 projeções de longo prazo. p. 112, 2018.

MAPA. Uso de microrganismos eficientes em plantas, sementes e solo. Fichas Agroecológicas: Tecnologias apropriadas para agricultura orgânica, n. 32. 2016.

MAYER J. et al. How effective are ‘Effective microorganisms® (EM)’? Results from a field study in temperate climate. **Applied Soil Ecology**, v. 46, p. 230-239, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139310001332>. Acesso em: 30 jan. 2019.

MENDES, L. de C.; JÚNIOR, F. de B. R. Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/568171/1/doc85.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2019.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2 ed. Lavras: Editora UFLA, 2006.

MOREIRA, Míriam Ferraz. Desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea do feijoeiro comum em função da distribuição e do teor de fósforo do solo. 2004. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2004.

MUTHAURA, C.; MUSUIMI, D.; OKELLO, S. V. Effective Microorganisms and their influence on growth and yield of pigweed (*Amaranthus dubians*). **ARPN Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 5, 2010.

NAÇÕES UNIDAS NO BRASIL- ONU BR. A Agenda 2030. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>. Acesso em: 13 de mar. de 2019.

NOSSA História. GEBANA Brasil. Disponível em: <http://gebana.staging.digitalhub.com.br/nossa-historia/>. Acesso em: 09 abr. 2019.

OECD-FAO/ Food and Agriculture Organization of the United Nations. OECD-FAO Agricultural Outlook 2015-2024. Paris: OECD Publishing; 2015.

OLTRAMARI, Sabino. Formação e organização da cadeia da soja orgânica no sudoeste do Paraná. 2003. Mestrado (Agroecologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

PACHECO, C. A. P. et al. BRS Caimbé – Variedade de milho precoce. Comunicado Técnico, n. 173, EMBRAPA, dez. 2009.

PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. Circula técnica n. 75, EMBRAPA, dez. 2006.

PARANÁ concentra maior número de agricultores orgânicos no país: entenda por quê. Centro paranaense de referências em agroecologia. Disponível em: <http://www.cpra.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=453&tit=Parana-concentra-maior-numero-de-agricultores-organicos-no-pais-entenda-por-que>. Acesso em: 09 abr. 2019.

PATERNIANI, E.; GOODMAN, M. M. **Races of maize in Brazil and adjacent areas**. 1977.

PERFECTO, I.; VANDERMEER, J. The agroecological matrix as alternative to the land-sparing/agriculture intensification model. Proceedings fo the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 107, ed. 13, p. 5786-5791, Publicado pela **National Academy of Sciences**, 2010. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/107/13/5786>. Acesso em: 03 maio 2019.

PII, Y. et al. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. **Biol Fertil Soils**, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/272151150_Microbial_interactions_in_the_rhizosphere_beneficial_influences_of_plant_growth-

promoting_rhizobacteria_on_nutrient_acquisition_process_A_review. Acesso em: 03 maio 2019.

PRODUÇÃO e exportação de milho devem crescer na safra 2018/2019. Agência Brasil. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2018-08/producao-e-exportacao-de-milho-devem-crescer-na-safra-20182019>. Acesso em: 05 abr. 2019.

REIS, V. M. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007, 22 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/629377/1/doc232.pdf>. Acesso em: 03 maio 2019.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D. da; LOBATO, P. N. Respostas da cultura do milho a aplicação de diferentes doses do inoculante (*Azospirillum brasilense*) Via semente. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 28, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010.

ROMAGNOLI, E. M.; ANDREOTE, F. D. Rizosfera. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTI, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221 p.

SALDIA, P. et al. Evaluation of effective microorganisms (EM) technology in maize (*zea mays* L.) Growth, development and yield in morogoro Tanzania. 2010.

SANTOS, H. G. dos, et al. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 5. ed. Embrapa solos, 2018.

SANTOYO, G.; HERNÁNDEZ-PACHECO, C.; HERNÁNDEZ-SALMERÓN, J.; HERNÁNDEZ-LEÓN, R. The role of abiotic factors modulating the plant-microbe-soil interactions: toward sustainable agriculture. **A review, Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 15, p. 1-15, 2017.

SILVA, A. C. F. da. Respiração basal do solo em diferentes sistemas de uso no Semiárido paraibano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 35, 2016. Disponível em: <https://www.sbcs.org.br/cbcs2015/arearestrita/arquivos/745.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2019.

SINGH, J. S.; PANDEY, V. C.; SINGH, D. P. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 140, p. 339-353, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880911000351>. Acesso em: 09 mar. 2019.

SOLO e vida - uma relação direta e abrangente. Embrapa: Páginas temáticas. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-solos-brasileiros/solos-e-vida>. Acesso em 10 de abril de 2019.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fenerógamas nativas e exóticas no Brasil. 3. ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2012.

TEIXEIRA, F. F. Milho cultivado no Brasil e banco de germoplasma – uma forma de classificação da variabilidade genética. Comunicado Técnico n. 155, EMBRAPA, dez. 2008.

TEIXEIRA, J. C. Modernização da agricultura no Brasil: impactos econômicos, sociais e ambientais. **Revista Eletrônica da Associação dos Geógrafos Brasileiros**, Três Lagoas, v. 2, n. 2, p. 21-42, set. 2005. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/291214367_Modernizacao_da_agricultura_no_Brasil_Impactos_economicos_sociais_e_ambientais. Acesso em: 30 abr. 2019.

TEIXEIRA, N. T.; WITT, L. de; FILHO, P. R. R. da S. Microrganismos de regeneração nas propriedades químicas do solo, desenvolvimento e produção de milho. **Engenharia Ambiental**, v. 14, n. 2, p. 72-80. 2017.

TIAN, F.; STEVENS, N. M.; BUCKLER, E. S. Tracking footprints of maize domestication and evidence for a massive selective sweep on chromosome 10. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n.1, p. 9979–9986, 2009. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19528660>. Acesso em: 01 maio 2019.

TOJU, H. et al. Core microbiomes for sustainable agroecosystems. **Nat. Plants**, 2018. doi: 10.1038/s41477-018-0139-4.

TORRES, M. Milho segunda safra: a bola da vez. Embrapa milho e sorgo. Disponível em: <https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/busca-de-noticias/-/noticia/5051619/milho-segunda-safra-a-bola-da-vez>. Acesso em: 06 abr. 2019.

VEJAN, P. et al. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agruculture Sustainability – A Review. **Moleculares**, 2016. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27136521>. Acesso em: 06 abr. 2019.

VIEGAS, G. P. Pesquisas com Milho no Brasil. Anais da E.S.A. Luiz de Queiroz, v. XLIII, p. 81–96, 1986. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/aesalq/v43n1/07.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2019.

VILLELA, Neco Torquato. Coleta e multiplicação de microrganismos (EM). 2017.

Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=St7vQ78nsBQ&t=171s>. Acesso em: 30 jan. 2019.

WHAT is EM?. EMRO. Disponível em: <https://www.emrojapan.com/what/>. Acesso em :01 jan. 2019.

YEMANS, J. C.; BREMNER, J. M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. 19, 1467-1476. 1988.

