

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO
PAULO
CAMPUS BARRETOS
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

SAMIA ROBERTI DA SILVA

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DO SOLO EM CULTURA
DE MILHO SAFRINHA TRATADA COM PRODUTOS A BASE DE
TRICHODERMA HARZIANUM.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

BARRETOS

2021

SAMIA ROBERTI DA SILVA

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DO SOLO EM CULTURA
DE MILHO SAFRINHA TRATADA COM PRODUTOS A BASE DE
*TRICHODERMA HARZIANUM***

Trabalho de Conclusão de Curso ou Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus Barretos.

Orientador: Prof Dr. Sergio Vicente de Azevedo

Co-orientador: Prof . Dr. Emanuel Carlos Rodrigues

BARRETOS

2021

S586a Silva, Samia Roberti da

Avaliação dos parâmetros biológicos do solo em cultura de milho safrinha tratada com produtos a base de *Trichoderma Harzianum* / Samia Roberti da Silva. – 2021.

46 f. : il.; 30 cm

Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de São Paulo - Campus Barretos, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Sérgio Vicente de Azevedo

Co-orientador: Prof. Dr. Emanuel Carlos Rodrigues

1.Solo. 2.Enzimas. 3.Bioestimulantes. I. Título.

CDD: 631.4

Ficha Catalográfica elaborada pela bibliotecária Juliana Alpino de Sales CRB 8/8764,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Dedico este trabalho à minha família.

Sempre foi por vocês.

AGRADECIMENTOS

Executar um trabalho nunca foi e nunca será um ato a ser realizado só. Durante cada etapa pessoas se fazem necessárias, e essas, ao final de tudo se tornam (se é que já não são) companheiros e exemplos para toda a vida. Dessa forma, ressalto aqui as pessoas das quais sem a companhia nada do que aqui será descrito seria possível.

“O educador se eterniza em cada ser que educa”. Com essa frase inicio meus sinceros agradecimentos ao co-orientador e professor Emanuel Rodrigues com imensa gratidão por todo o tempo e dedicação durante o decorrer deste trabalho. Obrigada por todo apoio, incentivo e FORÇA. Obrigada por contribuir com todos os ensinamentos que certamente serão de grande valia não só para minha formação acadêmica, mas para a formação de uma pessoa melhor. Ademais, agradeço também ao orientador professor Sergio Vicente de Azevedo, que se fez fundamental no decorrer do trajeto. Obrigada pela oportunidade disponibilizada, pela confiança findada e por todo apoio.

Dedido esse espaço também, ao companheiro de equipe e de vida, Luis Eduardo Marcolino, por todo apoio, paciência e compreensão, que foram fundamentais no decorrer de todas as etapas. Muito obrigada por embarcar conosco durante todo esse tempo. Sem você nada disso seria possível.

Por fim, encerro agradecendo à Deus, e à família, por todo apoio e suporte dos quais são indispenáveis.

“A importância dos infinitamente pequenos é infinitamente grande”

Louis Pasteur

RESUMO

O modelo de produção agrícola fundamentado na utilização de agroquímicos não renováveis e muitas vezes tóxicos coloca em risco tanto os sistemas naturais quanto as futuras gerações, necessitando de mudanças para atender a demanda de alimentos com o mínimo de impactos ambientais. Diante este desafio, surge a agricultura biológica como uma alternativa viável para a conciliação da demanda crescente de alimentos em consenso com a sustentabilidade ambiental, através de técnicas, produtos e atividades ditas conservacionistas . Diante o exposto, o presente trabalho baseou-se na avaliação de parâmetros biológicos do solo em uma cultura de milho (*Zea mays*) safrinha tratada com bioestimulantes a base de *Trichoderma harzianum* (Produto 1 e Produto 2). Para isso, contou-se com as seguintes análises: Respiração basal do solo (RBS), Carbono orgânico total (COT), Biomassa microbiana (BM), Quociente metabólico (qCO_2), microbiano ($qMic$) e enzima β -glicosidase, que permitiram inferir que estatisticamente os dois produtos utilizados demonstraram-se semelhantes, apesar de apresentarem melhores resultados no período de plantio, evidenciando a relação de ambos com a cultura.

Palavras-chave: Solo. Análises; Enzimas; Bioestimulantes; Qualidade.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação esquemática dos tipos de relevo que ocorrem na paisagem

Figura 2 - Carta de Munsell para classificação de coloração de solos.

Figura 3 - Triângulo de subgrupamento textural para classificação dos solos.

Figura 4- Mapa dos países por produção de milho.

Figura 5- Produção mundial de milho por país.

Figura 6- *Trichoderma harzianum*. A- Colônia cultivada em placa de petri; B- Organismo em microscopia eletrônica.

Figura 7- *Trichoderma harzianum*. A- Colônia cultivada em placa de petri; B- Organismo em microscopia eletrônica.

Figura 8- Propriedade pertencente ao IFSP campus Barretos unidade agrícola. Área de plantio destacada.

Figura 9- Áreas delimitadas de acordo com o tratamento para segundo e terceiro momento de coletas.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais exemplos dos tipos de rochas.

Tabela 2 - Estimativa da abundância de microrganismos do solo no ambiente.

Tabela 3 - Tratamentos e concentrações evidenciados nas áreas delimitadas para segundo e terceiro momento de coletas.

Tabela 4 - Resultados de solo submetido a bioestimulantes perante as análises de RBS (Respiração basal do solo), COT (Carbono orgânico total), BM (Biomassa microbiana), qCO_2 (Quociente metabólico), $qMic$ (Quociente microbiano) e β - glicosidase.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Solo	15
2.1.1 Formação de Solo	15
2.1.2 Caracterização dos solos	17
2.1.3 Classificação dos Solos	19
2.1.3.1 Argissolos.....	21
2.1.3.2 Cambissolos.....	21
2.1.3.3 Chernossolos.....	21
2.1.3.4 Espodossolos	22
2.1.3.5 Gleissolos	22
2.1.3.6 Luvisolos	22
2.1.3.7 Neossolos	22
2.1.3.8 Organossolos	22
2.1.3.9 Planossolos	22
2.1.3.10 Plintossolos	22
2.1.3.11 Vertissolos	22
2.1.3.12 Latossolos	22
2.1.4 Caracterização do solo do município de Barretos- SP	23
2.2 Caracterização da cultura analisada	23
2.3 Análises de solo	26
2.3.1 Bioanálises (BioAS)	27
2.3.1.1 β -glicosidase	28
2.4 Bioestimulantes	29
2.4.1 Definição	29
2.4.2 Bioestimulantes na Agricultura	30
2.4.3 <i>Trichoderma harzianum</i>	31
2.4.3.1 Principais características	31
2.4.3.2 <i>Trichoderma harzianum</i> como Bioestimulante	33
3 OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo Geral	35
3.2 Objetivos específicos	35
4 METODOLOGIAS	35
4.1 Coleta	36
4.2 Respiração Basal do Solo	36
4.3 Carbono Orgânico Total	37
4.4 Biomassa Microbiana	37
4.5 Quociente Metabólico	38

	11
4.6 Quociente Microbiano	38
4.7 β -glicosidase	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
6 CONCLUSÃO	43
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1 INTRODUÇÃO

Em meados do século XX, pós término da segunda guerra mundial, evento que trouxe inúmeras consequências para a humanidade, têm-se o advento de modelos tecnológicos que tinham, sobretudo, a responsabilidade de suprir as consequências desse período, e levar a população o equilíbrio que há muito lhes foram privados. Dentre as problemáticas que cercavam o mundo nesse contexto, destaca-se a falta de alimentos e insumos necessários para a população. Nesse sentido, na década de 50 consolidou-se um novo modelo de agricultura, denominado Revolução verde, cujo objetivo, segundo Albergoni (2007) era proporcionar soluções para a erradicação da fome mundial.

Dentre as principais características da revolução verde, destaca-se a produção de alimentos em grande escala, que contava com uso intensivo de fertilizantes e agrotóxicos, máquinas e equipamentos, além do desenvolvimento de pesquisas acerca do melhoramento genético de sementes usadas na agricultura, como milho, tomate, beterraba e algodão (ALBERGONI, 2007).

Como esperado, os resultados referentes a esse novo modelo conseguiram atender as expectativas daqueles países (ditos de terceiro mundo) que utilizaram de tais técnicas, e como resultado, obteve-se o dobro da produção de cereais em 30 anos, o que representa cerca de 7% de alimentos per capita nesses países que aderiram ao modelo. (PRETTY, 1995)

Por outro lado, segundo Albergoni (2007), o uso desenfreado de tais métodos, não foi suficiente para manter os ritmos de produção constante, o que proporcionou com que estes apresentassem certo limite de crescimento, em 1980. Além disso, sabe-se ainda que os danos acerca do uso desses métodos dizem respeito, sobretudo a inúmeros prejuízos acerca das qualidades biológicas do solo, como a perda da matéria orgânica, redução da biodiversidade, além de contaminação hídrica e assoreamento dos rios. (MATOS, 2011).

Apartir desse cenário de danos a respeito da qualidade dos sistemas naturais, teve-se o advento de estudos, técnicas e interesses acerca de atividades que pudessem conciliar a produção de alimentos com o mínimo de danos possível nos ambientes de produção. Desse modo, vem se consolidando o uso de técnicas biológicas, como o uso de organismos vivos no lugar de insumos químicos, a fim de reduzir ao máximo os danos referentes aos sistemas de produção, mantendo altos índices de produtividade (MATOS, 2011).

Pensando nisso, destacam-se os bioestimulantes como uma alternativa que visa atingir altas taxas de produtividade, levando em consideração as condições biológicas do solo. Dentre os inúmeros já citados na literatura, destaca-se o fungo *Trichoderma harzianum*.

O *Trichoderma harzianum* apresenta papel fundamental como agente de controle biológico, sendo considerado a espécie mais pesquisada em casas de vegetação, campo e laboratório, tanto nacionalmente, como em países de primeiro mundo (MACHADO, 2012). Além disso, apresenta papel fundamental no desenvolvimento de espécies vegetais, principalmente por possuírem potencial com relação à sanidade e crescimento das plantas, sem causar danos a essas e ao

ambiente no qual estão inseridos (LUCON, 2014).

Além disso, segundo Lucon (2014), os fungos do gênero *Trichoderma* tem potencial para atuar também na produtividade das plantas, uma vez que sua colonização ocorre, sobretudo, na região das raízes, auxiliando no desenvolvimento ao proporcionar maior aproveitamento de água e dos nutrientes presentes no solo.

Ademais, quando se trata de conservação dos ambientes de produção agrícola, além das análises físico-químicas, rotineiramente realizadas, destacam-se também as análises biológicas do solo, que corresponde ao componente vivo do solo, contribuindo na detecção de ações incorretas que tendem a contribuir para o processo de degradação deste ambiente tão importante. Sobre tais análises, têm-se a Respiração basal do solo (RBS), Biomassa microbiana (BM), Carbono orgânico total (COT), Quociente metabólico (Q_{CO_2}) e Quociente microbiano (q_{Mic}), como algumas das análises mais utilizadas em avaliações de qualidade dos solo relacionadas à esfera biológica (Lisboa, 2009).

Contudo, apesar de serem consideradas demasiadamente importantes para diversas avaliações acerca da qualidade desse ambiente, as análises de RBS, BM, COT, q_{CO_2} , e q_{Mic} podem oferecer melhores resultados em conjunto com as BioAS, e dessa maneira, designar de forma mais precisa o índice de qualidade dos solos (Mendes, 2019).

Sobre as BioAS, segundo Mendes (2019), consiste em uma tecnologia que agrega o componente biológico do solo a partir da análise de enzimas, (como a β -glicosidade, arilsulfatase e fostatase ácida) que são enzimas comumente encontradas no solo e, por estarem relacionadas ao seu metabolismo e ao potencial produtivo das culturas ali existentes, podem ser consideradas como bioindicador de qualidade do solo, e dessa forma, auxiliar na avaliação da saúde do solo.

Especificamente sobre a β -glicosidade, que será uma das análises evidenciada no presente estudo, sabe-se que a enzima é classificada como exocelulase e, por isso, pode ser sintetizada por inúmeros organismos, tais como bactérias, fungos, plantas e animais. Dessa forma, sua atividade pode estar diretamente relacionada com as condições que implicam o ciclo de vida de tais organismos, como as condições ambientais, além de níveis de material orgânico presente no ambiente em questão, o que a torna intimamente ligada à matéria orgânica do solo, apresentando dessa forma, maior sensibilidade perante possíveis distúrbios comparada à análises relacionadas a matéria orgânica (PAZUTTI, 2012).

Perante o exposto, o presente trabalho objetivou a avaliação de solo situado no campus agrícola do Instituto Federal da cidade de Barretos- SP submetido a dois bioestimulantes a base do fungo *Trichoderma harzianum*, a fim de avaliar as condições do solo sob efeito desses organismos perante às análises de Respiração basal do solo (RBS), Biomassa microbiana (BM), Carbono orgânico total (COT), Quociente metabólico (q_{CO_2}), Quociente microbiano (q_{Mic}), e β -glicosidade, valorizando os componentes biológicos do solo.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Solo

2.1.1 Formação do Solo

O solo pode ser definido, de forma sucinta, como a camada de rocha que sofreu algum tipo de transformação em sua composição, devido, principalmente, à ação de agentes externos, tais como temperatura, umidade, e crescimento de organismos. A esse processo, denomina-se intemperismo (LEPSCH, 2016).

O intemperismo atua nas rochas da litosfera (expostas na atmosfera), sendo que essas podem ser classificadas de acordo com a sua gênese em magmáticas ou ígneas, sedimentares e metamórficas (principais exemplos de cada tipo de rocha apresenta-se na tabela 1). Essas rochas por sua vez, através dos processos aqui descritos, darão origem a cada tipo de solo já encontrado (PEREIRA, 2019), em conjunto com o que se denomina por Fatores de formação do solo, que incluem: Material de origem, relevo, organismos ali existentes, clima e tempo. (LIMA, 2007).

Com relação à essas rochas, também denominadas como material de origem, são definidas, de acordo com o Serviço Geológico do Brasil como “uma associação natural de minerais (geralmente dois ou mais), em proporções definidas e que ocorre em uma extensão considerável”, e que também podem ocorrer tendo sua constituição detida a apenas um mineral, mas que se apresenta em grandes proporções, formando, por exemplo, um morro inteiro ou camadas que podem se estender por dezenas de quilômetros (BRANCO, 2015).

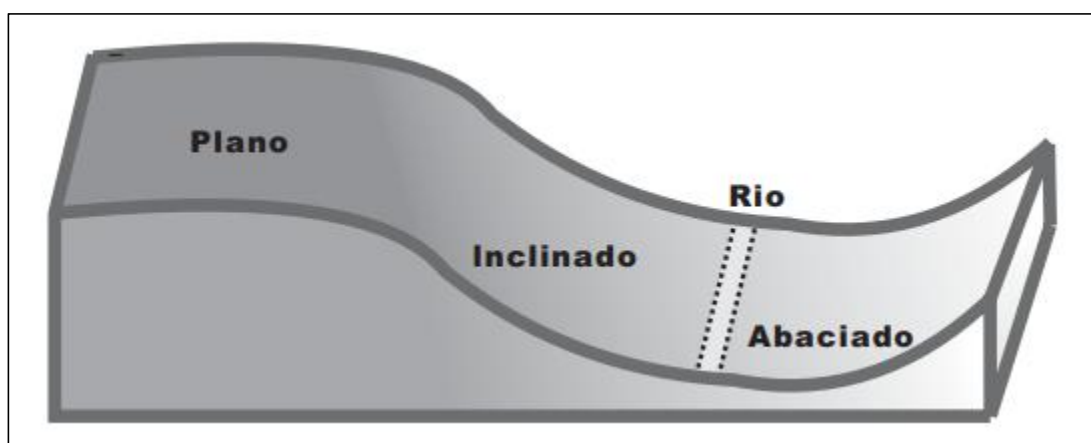
Ainda de acordo com Branco (2015), as rochas denominadas magmáticas ou ígneas são aquelas formadas pelo resfriamento e solidificação do magma (material em estado de fusão que existe abaixo da superfície terrestre e que pode extravasar através dos vulcões), sendo que quando há a solidificação do magma lentamente, são denominadas como rochas intrusivas, e quando a solidificação do magma ocorre de forma rápida, denomina-se rochas extrusivas (LIMA, 2007). Quanto às rochas sedimentares, são aquelas que se formam na superfície da crosta terrestre, por ação de agentes externos, tais como temperaturas e pressões relativamente baixas, além do acúmulo de sedimentos (fósseis, lama, e matéria orgânica). Já para as rochas metamórficas, tem-se aquelas formadas a partir de outra rocha já existente (sedimentar, ígnea ou metamórfica) por ação do metamorfismo (crescimento de cristais no estado sólido, sem fusão), através da ação brusca de temperatura e pressão.

Tabela 1- Principais exemplos dos tipos de rochas (LIMA, 2007).

Rochas Ígneas ou Magmáticas	Rochas Sedimentares	Rochas Metamórficas
Granito	Arenitos	Gnaisse
Basalto	Argilitos	Quartzito
Diabásio	Calcários	Xistos

De acordo com Pereira, *et. al* (2019) quanto ao relevo, sabe-se que é considerado um dos principais fatores para a formação do solo, uma vez que é responsável pelo controle dos fluxos hídricos presentes na paisagem, sendo que a distância do lençol freático e a declividade apresentam-se como as principais características a controlar os processos de erosão, lixiviação de solutos, etc. Ou seja, dependendo do tipo de relevo presente no solo (plano, inclinado ou abaciado -ilustrado na figura 1), a água oriunda de chuvas pode adentrar no solo (infiltração), escoar pela superfície (erosão) ou se acumular (formação de banhados).

Figura1- Representação esquemática dos tipos de relevo que ocorrem na paisagem (LIMA. 2007).



Com relação aos organismos presentes no solo, são considerados condicionantes para a pedogênese, sendo que a ação desses no substrato representa a diferença entre os processos de pedogênese e intemperismo. Além disso, a matéria orgânica adicionada ao solo (através da deposição de vegetais, resíduos de folhas ou de raízes, decompostos pela ação da fauna como formigas, minhocas e microrganismos) participa de diversos processos no solo e influencia diretamente em questões como a agregação de partículas, escurecimento do horizonte superficial, infiltração de água, além de minimizar a erosão e retenção de nutrientes fundamentais para o desenvolvimento das plantas (PEREIRA, et. Al, 2019).

Ademais, em termos de biodiversidade, o solo constitui o ambiente no qual diversas populações de todos os tipos de microrganismo coexistem (estimativa da abundância desses microrganismos apresenta-se na tabela 2), sendo que cada grupo contribui de forma significativa com inúmeras atividades nesse ambiente. (MATOS, 2015).

Tabela 2- Estimativa da abundância de microrganismos do solo no ambiente (Mattos, 2015)

Grupo de microrganismo	Quantidade (g/solo⁻¹)	Biomassa na zona das raízes (kg/ha⁻¹)
Bactérias	10 ⁸	500
Actinomicetos	10 ⁷	500
Fungos	10 ⁶	1500

Para o fator clima, é de conhecimento que atua tanto de forma direta como indiretamente no processo de formação do solo, e tem como principais componentes os fatores de precipitação pluviométrica e temperatura (DO AMARAL, 1995). Sobre tais fatores, estudos realizados por Lima (2007) apontam que climas tropicais podem se apresentar favoráveis à formação de solos muito intemperizados, resultando índices de pH mais ácidos, enquanto que aqueles formados sob clima temperado são bem menos intemperizados, ou seja, quanto mais quente e úmido o clima, maior a lixiviação de minerais, inclusive de bases, tornando o solo mais pobre e ácido, e vice-versa.

Por fim, para o último fator de formação dos solos, têm-se o tempo, que apresenta-se como um dos principais nesse processo, uma vez que atua diretamente em todos os outros. Isso significa que para a formação do solo há uma série de reações (químicas, físicas e estruturais) que demandam tempo para se manifestarem, e é esse o motivo pelo qual alguns solos demoram mais para atingir seu ponto de equilíbrio (ZIMBACK, 2003).

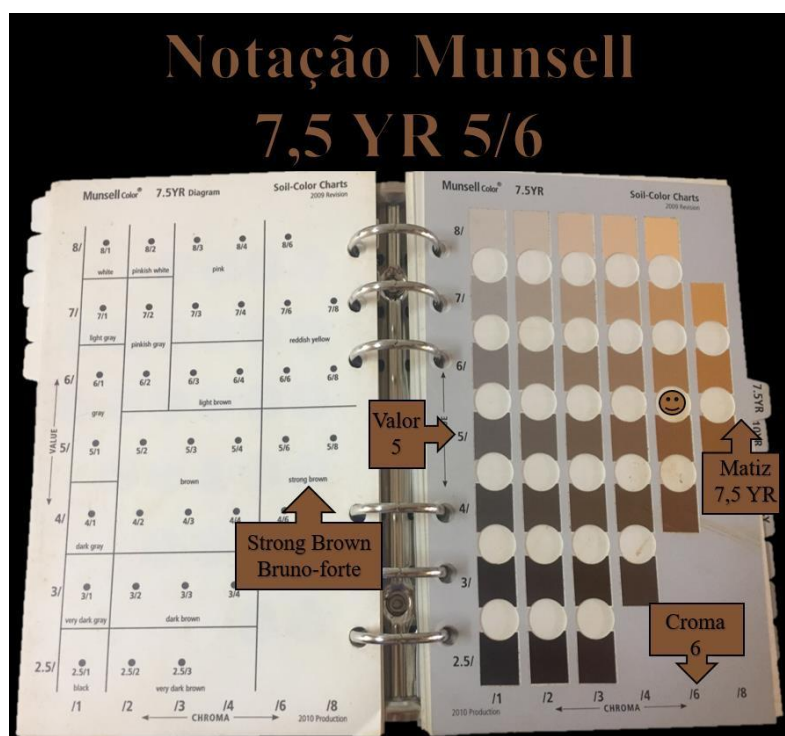
2.1.2 Caracterização dos solos

O solo pode ser caracterizado como um recurso natural de extrema importância para o ecossistema terrestre, apresentando relevância nos fatores químicos, físicos e biológicos. Sua formação se dá pela interação de diversos fatores perante o tempo, seguindo a definição proposta por Jenny (1941), em que: $Solo = f(m, r, o, c, v, t)$, em que f = função; m = material de origem; r = relevo; o = organismos; v = vegetação; t = tempo.

Apesar de ser considerado um recurso dinâmico caracterizado de acordo com o ambiente e condições em que está inserido, existem algumas características morfológicas que são fundamentais para sua caracterização, como a cor, textura, estrutura, consistência, porosidade, cerosidade, nódulos e concreções minerais, minerais magnéticos, carbonatos, manganês, sulfetos, eflorescências, e coesão (SANTOS *et al.*, 2018)

Sabendo disso, Guimarães (2016) aponta que primeira característica a ser notada para a classificação de solos é a Cor, podendo ser facilmente utilizada na descrição em campo, além de possibilitar conclusões acerca de atributos de extrema importância, como tipos de óxidos de ferro e matéria orgânica presente no solo. Com relação à determinação da cor do solo, há um padrão oficial, adotado desde 1951 pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América, e utilizado mundialmente desde então, denominado “Carta de Munsell”. Esse padrão é responsável por classificar as cores em três componentes: Matriz (cor espectral dominante), Valor (tonalidade da cor), e Cromo (pureza da cor).

Figura 2- Carta de Munsell para classificação de coloração de solos (Guimarães, 2016).



Com relação à Textura, é expressa de acordo com a proporção dos componentes granulométricos do solo, sendo que no Brasil essa classificação se baseia nos parâmetros propostos pela Embrapa (1979) seguindo os seguintes critérios: Argila (<0,002 mm), Silte (0,002 – 0,05 mm) e Areia (0,05 – 2 mm) (SANTOS *et al.*, 2018).

De acordo com a Santos, *et al.* (2018) para a estrutura têm-se a seguinte definição: “...O arranjo estabelecido pela ligação das partículas primárias do solo entre si por substâncias diversas encontradas no solo, como matéria orgânica, óxidos de ferro e alumínio, carbonatos, sílica, etc”, sendo de grande importância para o desenvolvimento das plantas, uma vez que influencia diretamente no sistema radicular, armazenamento e disponibilidade de água e nutrientes, além de garantir resistência à erosão. Sendo assim, a estrutura pode ser classificada em três quesitos: tipo (laminar, prismática, colunar, blocos angulares, blocos subangulares, granular), tamanho (muito pequena, pequena, média, grande muito grande), e grau de desenvolvimento (solta, fraca, moderada, forte).

Com relação à consistência do solo, sabe-se que é uma propriedade que reflete as forças de dois atributos (coesão e aderência) sob diferentes taxas de umidade, e por isso deve ser definida a partir da avaliação de amostras de solo em estado seco, úmido e molhado. Quanto ao primeiro estado, as avaliações serão sobre o grau de resistência à quebra ou esboroamento do torrão, podendo ser classificada em solta, macia, ligeiramente dura, dura, muito dura, extremamente dura. Já para o segundo estado, a análise é dada pelo esfacelamento do torrão ligeiramente úmido, sendo classificada em solta, muito friável, friável, firme, muito firme, extremamente firme. Por fim, para o último estado, serão avaliados dois quesitos (plasticidade, e capacidade de aderência), sendo a plasticidade definida em três tipos: não plástica, ligeiramente plástica e muito plástica, e a

capacidade de aderência, como: não pegajosa, ligeiramente pegajosa e muito pegajosa (SANTOS *et al.*, 2018).

Já para porosidade, deve ser descrita conforme a quantidade e o tamanho dos poros, sendo classificada como poucos, comuns ou muitos para quantidade; e pequenos, médios grandes ou muito grandes para tamanho (SANTOS *et al.*, 2018).

Com relação à cerosidade, ocorre nas superfícies dos agregados ou nos poros, tem aspecto de brilhante ou lustroso, resultado do depósito de material inorgânico ou argila. Pode ser facilmente visualizada em campo a olho nu ou através de análise laboratorial (análise micromorfológica), e classificada perante dois aspectos: quantidade (pouco, comum ou abundante), e grau de desenvolvimento (fraca, moderada ou forte) (SANTOS *et al.*, 2018).

Seguindo a cerosidade, os nódulos e concreções minerais apresentam-se como “corpos cimentados diferentes da matriz do solo e que podem ser destacados da mesma”, sendo que no caso dos nódulos, não apresentam organização interna, enquanto que as concreções minerais desenvolvem-se ao redor de um ponto de forma concêntrica. Como classificação, têm-se os seguintes critérios: quantidade, tamanho, dureza, forma, cor e natureza (SANTOS *et al.*, 2018).

No que diz respeito às características detectadas em campo, têm-se os minerais magnéticos, carbonatos, manganês, sulfetos, eflorescências, e coesão. Relativo aos minerais magnéticos, a avaliação se dá pelo nível de atração magnética, através de um ímã de bolso. Já para os carbonatos e manganês, a detecção se dá através da efervescência da solução de ácido clorídrico (10%) e peróxido de hidrogênio (20 volume) em contato com os respectivos minerais. Sobre os sulfetos, apresentam coloração amarelo-dourada e odor característicos quando observados. Já com relação eflorescências, são observadas no campo em forma de crostas de sais nas superfícies das estruturas, e, por serem resultado do acúmulo de sais após evaporação, são encontradas em solo considerado seco (SANTOS *et al.*, 2018).

Por fim, definida como a dureza do solo, a coesão pode ser classificada em uma escala que varia de duro, muito duro até extremamente duro, seguida por critérios referentes aos graus de coesão em campo (Moderadamente coeso, com consistência dura quando seco e de frágil a firme quando úmido; e Fortemente coeso, de consistência dura a extremamente dura quando seco e de frágil a firme quando úmido (SANTOS *et al.*, 2018).

2.1.3 Classificação dos solos

De acordo com o SiBCS (Sistema Brasileiro de Classificação de Solos), a classificação dos solos se dá através da avaliação dos dados morfológicos, físicos, químicos e mineralógicos do perfil que o representam, bem como os aspectos ambientais do local ao qual o solo está inserido (clima, vegetação, relevo, material originário, condições hídricas, características externas ao solo e relações solo-paisagem) (DOS SANTOS, 2018).

Com relação ao perfil, que é uma das principais formas que possibilitam a classificação dos

solos, sabe-se que pode ser definido como a atuação dos processos de intemperismo e pedogênese, e que pode ser observado verticalmente, tornando possível sua posterior classificação em horizontes, que se dá em: perfil O, perfil A, perfil E, perfil B, e perfil C.

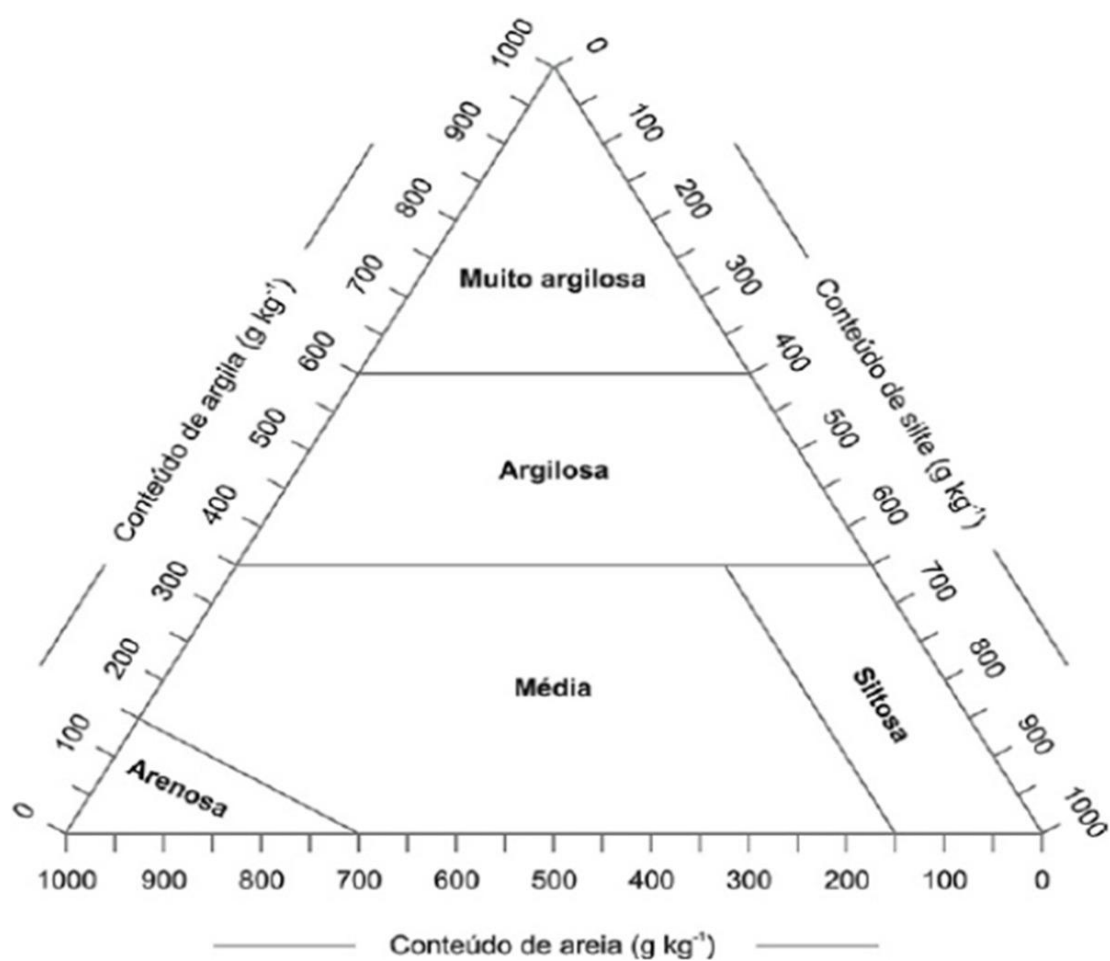
Para o perfil O denomina-se aquele solo que apresenta grande quantidade de matéria orgânica e elementos químicos (potássio, nitrogênio, ferro e magnésio) e conseqüentemente apresentam-se mais férteis, com grande potencial para produção agrícola. Já para o segundo perfil (A), define-se aquele que apresenta acúmulos de minerais bem como alta atividade biológica. Com relação ao perfil E, têm-se o horizonte de constituição mineral, cujas características como cor e textura indicam perda de argila ou húmus por transporte de material. Para o perfil B, apresenta acúmulo de argila, ferro, alumínio e pouca matéria orgânica. Por fim, para o último horizonte (C), é todo aquele que apresenta maior quantidade de materiais provenientes da rocha de origem, ainda em início de processo de alteração (DOS SANTOS, 2018).

Além disso, de acordo com Dos Santos (2018), existem seis atributos utilizados para a classificação dos solos (ordens, subordens, grande grupos, subgrupos, famílias e séries); que, em conjunto com dois conceitos clássicos e fundamentais para sua classificação (base e critério) definem os diversos tipos de solo, (CLINE 1963).

Ademais, há ainda um atributo secundário, denominado Grupamento textural, que contribui significativamente no processo de classificação dos solos, uma vez que é caracterizado como a união entre classes de texturas (areia, silte e argila), utilizando-se dos seguintes grupamentos texturais: Textura arenosa, média, argilosa, muito argilosa e siltosa, para a classificação de solos no 5º nível categórico (DOS SANTOS, 2018).

Caso haja demanda de informações mais detalhadas que contribuam para o processo de classificação, utiliza-se o subgrupamento textural (exibido na Figura 3), que é caracterizado de acordo sua classe textural seguindo os seguintes critérios: Textura muito arenosa (areia), Textura arenosa-média (areia franca), Textura média-arenosa (francoarenosa, quando apresenta mais de 52 g kg⁻¹ de areia), Textura média-argilosa (franco-argiloarenosa), Textura média-siltosa (quando apresenta composição granulométrica com menos de 350 g kg⁻¹ de argila, e mais de 150 g kg⁻¹ de areia), Textura siltosa (quando apresenta composição granulométrica com menos de 350 g kg⁻¹ de argila, e menos de 150 g kg⁻¹ de areia), Textura argilosa (quando apresenta composição granulométrica com conteúdo de argila entre 350 a 600 g kg⁻¹), Textura muito argilosa (quando apresenta composição granulométrica com teor de argila superior a 600 g kg⁻¹) (DOS SANTOS, 2018).

Figura 3- Triângulo de subgrupamento textural para classificação dos solos (Sistema Brasileiro de



Levando em consideração os atributos já mencionados, o SiBCS classifica os solos de território Brasileiro em 13 classes: Argissolos, Cambissolos, Chernossolos, Espodossolos, Gleissolos, Latossolos, Luvisolos, Neossolos, Organossolos, Planossolos, Plintossolos, e Vertissolos (DOS SANTOS, 2018).

2.1.3.1 Argissolos

São aqueles solos cuja constituição se baseia principalmente em materiais minerais. Com relação ao horizonte, se enquadra no perfil B, apresentando argila em sua composição

2.1.3.2 Cambissolos

Grupo de solos que também apresenta-se no horizonte B incipiente subjacente a qualquer tipo de horizonte superficial (exceto hístico com 40 cm ou mais de espessura) ou horizonte A chernozêmico, quando o B incipiente apresentar argila de atividade alta e saturação por bases alta.

2.1.3.3 Chernossolos

Solos constituídos por materiais minerais, e que apresentam horizonte com perfil tipo A chernozêmico seguido por

- a) Horizonte B incipiente ou B textural;
 b) Horizonte cálcico, petrocálcico ou caráter carbonático coincidindo com o horizonte A

chernozêmico e/ou com horizonte C;

c) Contato lítico desde que o horizonte A chernozêmico contenha 150 g kg⁻¹ de solo ou mais de carbonato de cálcio equivalente.

2.1.3.4 Espodossolos

São aqueles solos que apresentam horizonte B subjacente ao horizonte E, e são constituídos por materiais minerais. Além disso, uma característica marcante para esse tipo de solo é a ocorrência da sequência de horizontes (A, E, B, e C), que pode ser visualizada nitidamente.

2.1.3.5 Gleissolos

São solos constituídos por material mineral, hidromórficos. Possuem horizonte A muito escuro sobre um horizonte C bem claro, com possível presença de pequenas manchas.

2.1.3.6 Luvisolos

Solos que apresentam horizonte com perfil B, e são constituídos por materiais minerais com argila de alta atividade e saturação por bases alta na maior parte dos primeiros 100 cm.

2.1.3.7 Neossolos

São aqueles solos que ainda apresentam muitos materiais de origem, e por esse motivo são considerados como solos jovens ou “pouco evoluídos”, sem horizonte B. Sua constituição se baseia em materiais minerais ou por material orgânico com menos de 20 cm de espessura.

2.1.3.8 Organossolos

Os organossolos são solos constituídos por material orgânico, de coloração escura, resultante do acúmulo de resíduos vegetais. Apresentam horizonte hístico (O ou H) com, no mínimo, 40 cm de espessura.

2.1.3.9 Planossolos

São solos que formados por podzolização de argila, e apresentam os horizontes A ou E com transição entre o perfil B.

2.1.3.10 Plintossolos

Solos constituídos por material mineral, e que apresentam possíveis sequências de horizontes

A B e C.

2.1.3.11 Vertissolos

São aqueles solos cuja constituição é rica em argila, que apresentam um padrão particular, sendo que em épocas secas tendem a se contrair, favorecendo a formação de fendas profundas e rachaduras, enquanto que na época úmida, se expandem. Normalmente apresentam os perfis A e C.

2.1.3.12 Latossolos

Com relação aos latossolos, sabe-se que apresentam ampla distribuição em todo o território Brasileiro (cerca de 50%), e são considerados como a classe de solo mais desenvolvido da crosta terrestre. Sua constituição também se dá por materiais minerais. Com relação ao horizonte,

apresenta a transição (dificilmente evidenciada) entre os perfis A, B e C.

2.1.4 Caracterização do solo do município de Barretos- SP

Com relação ao exposto acima, sabe-se que o solo oriundo da unidade agrícola do Instituto Federal, situado na cidade de Barretos- SP, o qual se realiza todas as atividades que aqui serão descritas, é classificado como Latossolo vermelho ou vermelho-amarelo distrófico, moderado ou fraco, textura média, álico ou não álico, fase relevo suave ondulado. Ademais, pode ser entendido como um solo cuja saturação por bases é inferior a 50% na grande maioria dos 100cm presentes em horizonte B, com mais de 520 g kg⁻¹ de areia (DOS SANTOS, 2018), além de apresentar alta permeabilidade e baixa coesão e retenção de água, características que os torna vulneráveis perante a degradação oriunda do manejo agrícola (AGRÔNOMICO, 2021).

2.2 Caracterização da cultura analisada

De acordo com Código Internacional de Nomenclatura Botânica (2009), o milho pertencente do reino Plantae; divisão Magnoliophyta; classe Liliopsida; ordem Poales; família Poaceae, subfamília Panicoideae e gênero *Zea*; espécie *Zea mays*, e é composto por um grupo de gramíneas, sendo algumas perenes e outras anuais, nativas do México e da América Central (SANTOS, 2010), que tem seus primeiros registros de cultivo datado há aproximadamente 7300 anos (MERCANTIL, 2005).

Com relação a suas características fisiológicas, o milho apresenta as seguintes estruturas: Semente, Caule, Folha e Raiz. A semente, é classificada botanicamente como cariopse e apresenta três partes (pericarpo, endosperma e embrião) que, em condições favoráveis leva cerca de 5 a 6 dias para total germinação, tendo a temperatura do solo é superior a 10°C. Quanto ao caule, apresenta colmo ereto, geralmente não ramificado com nós e entrenós que se denominam de meritalos; pode atingir 2 metros de altura, sendo que esse tamanho varia em função do tipo de semente, bem como das condições ambientais, que incluem clima, fornecimento de água, características do solo, e disponibilidade de nutrientes. Dispostas alternadamente e inseridas nos nós, as folhas do milho são consideradas estreitas, com o seu comprimento superior à largura. Por fim, para as raízes, desenvolvem-se por vários eixos (fasciculadas), e são importantes na sustentação física da planta como um todo (BARROS, 2014).

De acordo com Cruz (2006), existem diversas condições que garantem a qualidade da cultura de milho, e sua posterior produção, que são: temperatura, umidade do solo, fotoperíodo, e radiação solar. Além disso, há ainda alguns parâmetros utilizados, que também proporcionam qualidade e altas taxas de produção, definidos como: período de semeadura, profundidade da semeadura, densidade do plantio, e espaçamento entre as linhas de plantio.

Para condições climáticas, tem-se a temperatura como uma das principais, uma vez que pode influenciar diretamente os processos metabólicos que ocorrem no metabolismo do vegetal,

sendo que se a temperatura for mais elevada, o processo metabólico será mais acelerado enquanto que em períodos mais frios o metabolismo tende a reduzir. Dessa forma, de acordo com a EMBRAPA, a temperatura ideal para a cultura de milho se dá entre de 24 e 30°C (CRUZ, 2006).

Levando em consideração que a quantidade de água consumida pela planta durante seu ciclo se dá em torno de 600 mm, os índices de precipitação ideais para seu desenvolvimento vão de 250 a 5000 mm anuais, sendo que o déficit hídrico ocasiona danos em todas as fases da produção da cultura (CRUZ, 2006).

O fotoperíodo, definido como o número de horas de luz solar incidida sob a cultura, influencia diretamente a produtividade do milho, sendo que seu acréscimo proporciona com que a etapa vegetativa aumente e proporcione um aumento no número de folhas emergidas durante a diferenciação do pendão e do número total de folhas produzidas pela planta (CRUZ, 2006).

A condição definida como radiação solar influencia demasiadamente a produção dos grãos, uma vez que atua diretamente no processo fotossintético, o qual é fundamental no que diz respeito ao potencial produtivo, sendo que a redução de índices de 30% a 40% da intensidade luminosa por períodos longos tende a retardar a maturação dos grãos ou ocasionar quedas nos índices de produção (CRUZ, 2006).

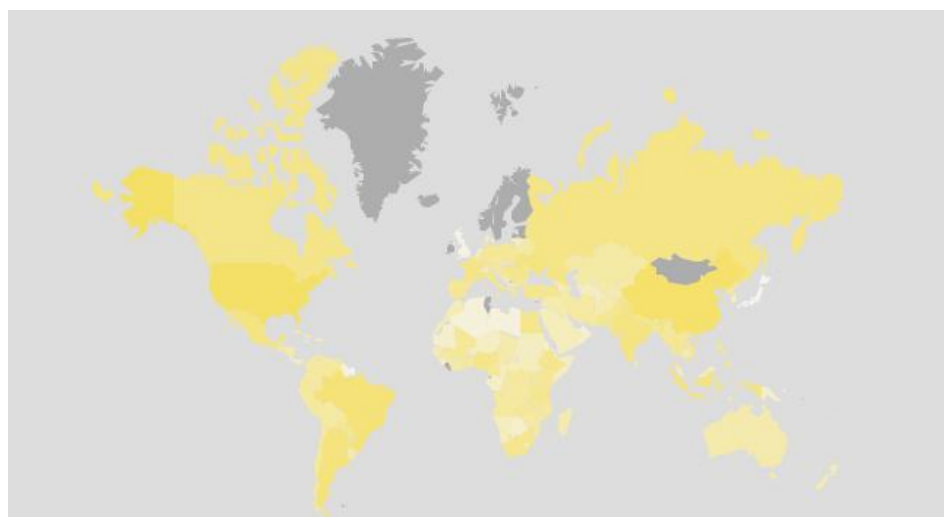
Para os parâmetros de qualidade, com relação ao período de semeadura, sabe-se que é influenciado pelas condições climáticas citadas acima. Sendo assim, segundo Cruz (2009), a época de semeadura adequada é aquela que coincide o período de floração com os dias mais longos do ano, enquanto que a etapa de preenchimento de grãos deve ser relacionada com o período de temperaturas mais elevadas e alta disponibilidade de radiação solar. Já com relação a profundidade de semeadura, sabe-se que depende do tipo de solo, bem como das condições hídricas e de temperatura do mesmo, mas que o ideal é que a semente seja inserida em uma profundidade que possibilite o contato com a umidade do solo. Ademais, tem-se ainda a densidade de plantio (número de plantas por unidade de área), que deve se dar de 30.000 a 90.000 plantas/ha, sempre dependendo das condições climáticas. Por fim, apresenta-se o espaçamento entre fileiras, sendo que diversos estudos tem apontado espaçamentos de 45-50cm como a melhor opção para a produtividade desses grãos.

Pensando em grãos, é de conhecimento que o milho apresenta diversas variedades, sendo os principais grupos denominados como: milho de silagem, milho doce, milho pipoca, milho branco, e mini milho. Em referência ao milho de silagem, é comumente utilizado para a produção de silo, um dos principais alimentos de ruminantes (principalmente gado de leite e de corte), por apresentar baixo custo e aproveitamento mais eficaz de nutrientes. Já para o milho doce, que é um dos mais consumidos pelos seres humanos, apresenta alto valor nutritivo, e por ser oriundo de um processo mutante, produz açúcar no lugar de amido. Com relação ao milho de pipoca, como o próprio nome sugere, é aquele grão que em contato com grande quantidade de óleo em temperaturas elevadas dá origem a pipoca, alimento fundamental para acompanhamento de um

bom filme; alimento esse que é um dos milhos mais exportados do Brasil. Quanto ao milho branco, muito procurado em festividades juninas por ser indispensável no preparo da canjica, mas que também pode ser utilizado na produção de silagens, caracteriza-se por apresentar uma resistência considerável perante a doenças. Por fim, tendo em consideração o mini milho, espécie oriunda do milho doce, é demasiadamente utilizado para ser consumido em conserva ou in-natura, mas pouco produzido no Brasil (MASCARENHAS, 2019)

No que diz respeito a distribuição dessa cultura tão diversa, sabe-se que perante o cenário mundial (distribuição da cultura no mundo encontra-se na imagem 2), o cereal apresenta grande importância, visto que participa diretamente de inúmeras etapas da produção de alimentos, tendo então um destaque na esfera econômica perante a escala industrial (SANTOS, 2010).

Figura 4- Mapa dos países por produção de milho (2021)



Quanto a produção mundial de milho, sabe-se que gira em torno de 1.060.247.727 toneladas de milho por ano, sendo que os principais países responsáveis por esses índices são os Estados Unidos da América, China e Brasil (lista de países por produção de milho apresenta-se na figura 5)

Figura 5- Produção mundial de milho por país (2021)

País	Produção (Toneladas)	Produção por Pessoa (Kg)	Área cultivada (Hectare)	Rendimento (Kg / Hectare)
Estados Unidos da América	384 777 890	1 173,944	35 106 050	10 960,4
República Popular da China	231 837 497	166,328	38 979 528	5 947,7
Brasil	64 143 414	306,126	14 958 862	4 288
Argentina	39 792 854	894,332	5 346 593	7 442,7
México	28 250 783	226,481	7 598 086	3 718,1
Ucrânia	28 074 610	664,27	4 252 200	6 602,4
Índia	26 260 000	19,649	10 200 000	2 574,5
Indonésia	20 369 551	76,862	3 792 839	5 370,5
Rússia	15 309 813	104,236	2 777 019	5 513
Canadá	12 349 400	331,852	1 317 700	9 371,9

Com relação ao Brasil, a cultura apresenta-se como o cereal mais cultivado, com cerca de 288,61 milhões de toneladas de grãos que são produzidos em uma área de aproximadamente 71,5 milhões de hectares, representando uma das principais fontes de renda o país, a qual o Estado de São Paulo é responsável por 70% a 80% da produção nacional (CONAB, 2021).

Além disso, apesar de ser considerado como uma das culturas mais cultivadas, o milho também é uma das culturas que mais sofre com o estresse hídrico, e ainda assim, no ano de 2020, as exportações somaram cerca de U\$6 bilhões. Tudo isso devido a utilização da nova variedade híbrida que se faz resistente a seca, demonstrando ainda o efeito de bioestimulantes utilizados no estudo (AMBROSIO, 2021).

2.3 Análises de solo

Levando em consideração as atuais expectativas quanto à produção de alimentos que atenda as demandas de consumo para garantir o abastecimento populacional, vinculado à preocupação crescente a respeito da manutenção e conservação ambiental, associada à qualidade do solo, têm-se cada vez mais estudos e pesquisas sendo desenvolvidos a fim de levantar parâmetros, indicadores e alternativas que sejam capazes de manter e estimar a qualidade e/ou degradação dos solos, principalmente daqueles utilizados para a produção agrícola (MERCANTE, 2001).

Quanto aos indicadores comumente utilizados, sabe-se que esses tem como ponto central para a determinação da qualidade dos solos, estudos referentes principalmente às condições químicas e físicas do solo, como análise de pH, relação cálcio/magnésio, saturação por bases, ou então algumas análises de cunho biológico acerca da matéria orgânica do solo, que diz respeito à parte viva presente no mesmo, determinada, especialmente, através da incorporação de carbono e/ou liberação de CO₂, que incluem análises como Respiração Basal do Solo, determinação de Carbono Orgânico Total, Carbono da Biomassa Microbiana, Quociente metabólico e Quociente microbiano (LISBOA, 2009).

Com relação à análise de respiração basal do solo, apresenta-se como uma das metodologias mais antigas, utilizadas para quantificar a atividade microbiana no solo, apesar de refletir, além da atividade microbiológica, a atividade de plantas, animais ali existentes (SILVA, 2007).

Quanto à determinação do carbono orgânico total, é quantificada através da quantidade de carbono oriundo apenas de materiais orgânicos facilmente oxidáveis ou decomponíveis. Dessa forma, possui íntima relação com os valores da biomassa microbiana do solo (TEIXEIRA, 2017).

Já para a biomassa microbiana, é definida como todo o componente vivo da matéria

orgânica presente no solo, exceto animais e raízes de plantas. Sendo assim, seu aumento em relação ao percentual da matéria orgânica indica de forma antecipada a elevação do acúmulo de carbono orgânico (LISBOA, 2009).

Acerca do quociente metabólico, têm-se que é a razão entre a respiração basal do solo e a biomassa microbiana, sendo muito utilizado para estimar a eficiência do uso do substrato pelos microrganismos. Dessa maneira, quanto menor o quociente metabólico, melhores as condições do solo para habitação de microrganismos, uma vez que indica que o carbono não foi liberado, e portanto está presente de forma incorporada na matéria orgânica (SILVA, 2007).

Já para o quociente microbiano, sabe-se que é a razão entre a biomassa microbiana e o carbono orgânico total que está incorporado, demonstrando então, a eficiência dos microrganismos na utilização de compostos orgânicos (SILVA, 2007).

Segundo Lisboa (2009), apesar de eficientes, em retratar os impactos gerados em determinado ambiente, as análises acerca da matéria orgânica quando analisadas isoladamente, tornam-se incapazes de traçar de forma clara os impactos gerados em tempo real, pois o período para que os impactos sejam perceptíveis através dos índices de redução dos teores de carbono orgânico são demasiadamente longos, ou seja, tratam-se de análises importantes, porém, não tão sensíveis, a fim de detectar os níveis de degradação a tempo de correção. Além disso, outra questão a ser levada em consideração a respeito de análises oriundas da biomassa microbiana é o fato de que essas não fornecem indicações sobre os índices de atividade das populações microbianas existentes no solo, e dessa forma, podem demonstrar resultados não satisfatórios, uma vez que é possível que os solos apresentem elevadas quantidades de biomassa inativa, o que de certa forma não corresponde ao panorama real do ambiente estudado (MENDES, 2019).

Dessa forma, a busca por análises mais sensíveis tem se tornado um dos principais objetivos para se estimar os parâmetros de qualidade dos solos, e os indicadores biológicos e bioquímicos vem se destacando neste quesito, uma vez que se apresentam mais sensíveis aos impactos, permitindo, dessa maneira, que avaliações possam ser feitas logo após possíveis perturbações (MENDES, 2019).

Além disso, assim como apresentado por Mendes (2019), os métodos convencionais de análise de solo muitas vezes não são capazes de justificar questões como maior produtividade em sistemas de manejo conservacionistas, (como integração lavoura pecuária floresta, e sistema de plantio direto) ou questões relacionadas a manutenção de produtividade frente a situações adversas, demonstrando a necessidade da inclusão de parâmetros relacionados ao funcionamento biológico do solo, que vão se dar através de BioAnálises (BioAS).

2.3.1 Bioanálises (BioAS)

Com relação às BioAS, sabe-se que consistem em análises que agregam os parâmetros relacionados aos componentes biológicos do solo através de bioindicadores de qualidade, e tem

como principal objetivo contribuir para a sustentabilidade de produções agrícolas em consenso com o equilíbrio ambiental (Mendes, 2019).

Dessa maneira, para que atendam as expectativas de eficácia, as BioAS utilizam de bioindicadores que além de serem capazes de determinar índices qualidade do solo, podem ser aplicados com facilidade, de forma que o produtor possa ter tais conhecimentos como ferramenta, para monitorar a realidade referente à saúde de seu solo. Para isso, segundo Mendes (2019) a Embrapa conta com alguns quesitos importantes para selecionar tais bioindicadores, que são: Refletir aspectos da funcionalidade do ecossistema em questão; demonstrar respostas rápidas e precisas acerca de quaisquer perturbações; possuir distribuições universais, com devidas particularidades que possam variar em cada localização; e ser de determinação simples com baixo custo.

Sobre esses bioindicadores, sabe-se que diferentemente das análises que envolvem a matéria orgânica, possuem a capacidade de catalisar todas as reações metabólicas intracelulares que há nos seres vivos por serem determinados por enzimas, além de desempenhar papel fundamental atuando em várias reações hidrolíticas e oxidativas que resultam na decomposição de resíduos orgânicos (ligninases, celulasas, proteases, glucosidases, galactosidases), ciclagem de nutrientes (fosfatases, sulfatases, uréase), e formação da matéria orgânica e estrutura do solo (MENDES, 2019). Dessa maneira, para o desenvolvimento deste trabalho, as enzimas utilizadas como bioindicadores de qualidade do solo são: β -glicosidade e Arilsulfatase

2.3.1.1 β -glicosidase

De acordo com Pazutti (2012), entende-se por β -glicosidase toda enzima que atua na última etapa da decomposição da celulose, sendo capaz de quebrar ligações β -glicosídicas em dissacarídeos, oligossacarídeos, e glicosídeos conjugados, liberando açúcar em forma de glicose. Além disso, podendo de ser classificada como uma enzima exocelulase, as β -glicosidases podem ser sintetizadas por inúmeros organismos, tais como bactérias, fungos, plantas e animais, e por isso sua atividade pode estar diretamente relacionada com as condições que implicam o ciclo de vida de tais organismos, como as condições ambientais (tanto químicas como físicas), além de níveis de material orgânico presente no ambiente em questão, o que a torna intimamente ligada à matéria orgânica do solo, apesar de apresentar maior sensibilidade perante possíveis distúrbios comparada à MO.

Sobre essa capacidade de detecção de distúrbios, estudos realizados por Mendes (2019) mostraram a discrepância de comportamento dessa enzima comparada à análises comumente utilizadas (como biomassa microbiana), em que os resultados obtidos pela enzima frente a diferentes sistemas de manejo mostraram um coeficiente de variação igual a 12, enquanto que a análise de Biomassa microbiana apresentou tal coeficiente igual a 21, demonstrando o quão estável a enzima se mostra.

Tótola (2018) aponta em seus estudos a importância das enzimas para quantificação da qualidade dos solos, uma vez apresentam-se como parte integrais no processo de ciclagem de nutrientes, e no caso da enzima β -glicosidase, desempenha papel fundamental no ciclo biótico deste ambiente, uma vez que pode ser responsável pela liberação de açúcar de baixa massa molar, os quais são fundamentais para os microrganismos, uma vez que servem de fonte de energia para esses.

Além disso, há ainda estudos sobre reabilitação de solos após processos de mineração que utilizam a enzima β -glicosidase para estipular a qualidade do mesmo, uma vez que a quantificação da atividade da enzima pode fornecer indicações das alterações nos processos metabólicos do solo. Dessa forma, os índices referentes à β -glicosidase nos solos tem potencial para estipular o quanto degradado o solo se encontra, além de conseguir retratar se a reabilitação do mesmo está obtendo êxito (CARNEIRO, 2008).

Ademais, já é de conhecimento perante a comunidade científica que análises que envolvem a determinação da enzima β -glicosidase com indicador biológico da qualidade de solos além de se mostrarem eficazes, possuem seus procedimentos para determinação relativamente simples, e de fácil realização (TÓTOLA, 2018).

Além disso, estudos realizados por Mendes (2019) apontam que tal enzima possui potencial suficiente para atuar como indicador de qualidade dos solos, uma vez que apresenta sensibilidade perante aos diversos sistemas de manejo, além de possuir estreita relação tanto com a matéria orgânica do solo, como para índices de rendimentos de grãos.

2.4 Bioestimulantes

2.4.1. Definição

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os bioestimulantes são definidos como:

“produto que contém substância natural com diferentes composições, concentrações e proporções, que pode ser aplicado diretamente nas plantas, nas sementes e no solo, com a finalidade de incrementar a produção, melhorar a qualidade de sementes, estimular o desenvolvimento radicular, favorecer o equilíbrio hormonal da planta e a germinação mais rápida e uniforme, interferir no desenvolvimento vegetal, estimular a divisão, a diferenciação e o alongamento celular, incluídos os processos e as tecnologias derivados do bioestimulante” (MAPA, 2021).

Além da definição proposta pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, outros autores citam os bioestimulantes como todo produto oriundo de dois ou mais reguladores vegetais, ou dois ou mais reguladores vegetais com adição de outros compostos de natureza bioquímica diferente (tais como aminoácidos, vitaminas, etc), associando o termo à mistura de reguladores de crescimento, e não um produto de fonte natural (MÓGOR, 2021).

Dessa maneira, os bioestimulantes utilizados no presente estudo se enquadram tanto na definição proposta pelo MAPA, quanto na definição citada por outros autores, uma vez que o

bioestimulante denominado P1 consiste em um produto de origem natural, com o uso de um organismo vivo (*Trichoderma harzianum*), fungo comumente encontrado no solo. Para o bioestimulante denominado P2 trata-se também de um produto natural cujo componente se baseia no uso do fungo *Trichoderma harzianum* com a adição de uma substância complementar.

2.4.2. Bioestimulantes na Agricultura

De acordo com Zandonadi (2016), a produção agrícola influencia diretamente a economia do Brasil, sendo responsável por 21,46% do Produto Interno Bruto (PIB) do país, o que economicamente gera cerca de 1,2 bilhão anualmente. Nesse contexto, segundo a autora, o Brasil enfrenta uma forte dependência do mercado externo, uma vez que os principais fertilizantes (potássio, nitrogênio e fósforo) utilizados para suportar a grande demanda são importados, o que tende a gerar consequências graves, tanto na esfera econômica, quanto na esfera política.

Além disso, existem ainda as consequências ambientais perante o uso excessivo de tais produtos, que dentre os anos de 2013 à 2015 atingiram cerca de 20,2 milhões de toneladas. No que se refere a essas consequências, ressalta-se como uma das principais, o descarte de tais produtos, uma vez que são realizados tanto no campo, onde são utilizados, como no lixo orgânico produzido nas cidades, ou até via processos industriais (Zandonadi, 2016).

Ademais, é de conhecimento que tanto o uso de fertilizantes, como de defensivos agrícolas geram além do custo a nível nacional, custos para o produtor, uma vez que o uso de tais produtos tem como principal finalidade a proteção da cultura com relação à possíveis pragas e/ou doenças oriundas de fitopatógenos. Dessa forma, ou a quantidade desses produtos a ser utilizada em uma lavoura tende a aumentar cada vez mais, sendo que alguns organismos patógenos podem vir a ter potencial resistente a tais produtos, ou sua utilização deverá ser substituída por outra com potencial ainda maior, tornando a agricultura cada vez mais dependente de tais substâncias (STEFFEN, 2019).

Dessa forma, perante o exposto, têm-se cada vez mais influências, sobretudo ambientais e econômicas que justificam o incentivo de tais produtos no processo de produção agrícola, uma vez podem ser considerados aliados na manutenção da produtividade de alimentos em consenso com a conservação do meio ambiente, por se apresentar como uma alternativa viável para a substituição de produtos de natureza química, como agrotóxicos e pesticidas (GRAÇAS, 2015).

Dessa forma, há estudos demonstrando que os efeitos benéficos dos bioestimulantes pode ser associado, sobretudo à sua habilidade de influenciar a atividade hormonal das plantas, que é responsável pela regulação do desenvolvimento da mesma, bem como da sua interação com o ambiente (SILVA, 2019).

Além disso, é possível evidenciar os efeitos dos bioestimulantes principalmente quando utilizados em situações ambientais desfavoráveis, isto é, quando a planta encontra-se em estresse

(hídrico, por exemplo), uma vez que há o aumento dos níveis de antioxidantes na planta, devido à elevação dos níveis ativos de enzimas como superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e catalase, que são enzimas com capacidade de eliminar compostos maléficos do metabolismo vegetal, reduzindo os danos às essas (SILVA, 2019).

Como exemplo de bioestimulantes, têm-se quatro grupos principais: aminoácidos e hidrolisados de proteínas, substâncias húmicas, extratos de algas, e microrganismos e inóculos (SILVA, 2019). Sobre o último grupo, sabe-se que, dentre inúmeras práticas que incluem a biodiversidade como aliada à produção de alimentos, têm-se os microrganismos como alternativa capaz de unir as demandas agrícolas às expectativas de redução de produtos industrializados (GRAÇAS, 2015).

Ainda com relação a esses microrganismos, sabe-se que podem atuar tanto de forma indireta, quanto direta, sendo que quando atuam diretamente, são responsáveis pela produção de compostos capazes de regular o funcionamento vegetal, e quando atuam indiretamente, são capazes de induzir certas resistências aos vegetais, atuando no controle de fitopatógenos, aumentando os níveis de tolerância ao estresse, dentre outros (OLIVEIRA, 2003).

Sabendo disso, segundo Bettiol (1991), um dos componentes mais utilizados para tal função por se destacar devido à sua eficiência é o fungo *Trichoderma*, atualmente considerado um dos principais agentes biológicos como bioestimulante, que será utilizado nos dois tratamentos biológicos neste trabalho, sendo um exclusivamente a base de *Trichoderma* (3×10^{12} conídios/g), denominado BioT, e outro a base de *Trichoderma* com o acréscimo de um aditivo, denominado BioFT.

2.4.3. *Trichoderma harzianum*

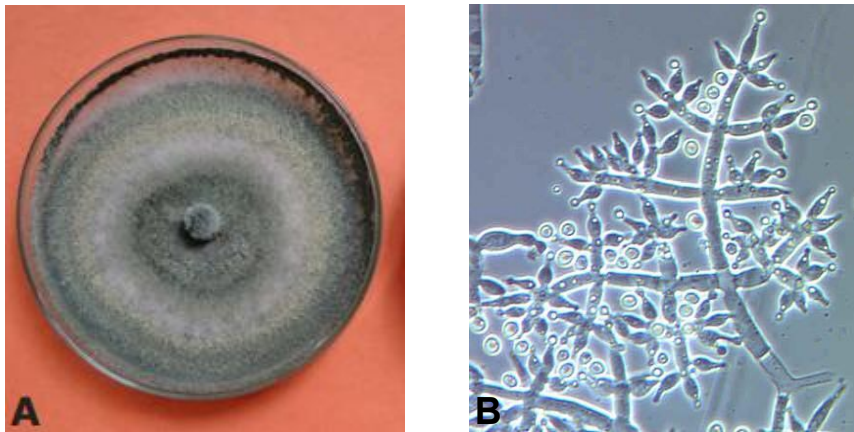
2.4.3.1. Principais características

Os organismos denominados *Trichoderma harzianum* (apresentado na imagem 4) são fungos filamentosos, de crescimento acelerado pertencentes à subdivisão dos ascomicetos (RESENDE, 2004). São classificados como fungos de vida livre presentes no solo predominantemente de regiões temperadas e/ou tropicais, e que portanto, não necessitam de outros organismos para obtenção de energia, dependendo somente do material orgânico ou minerais presentes no solo. Além desses materiais, os Trichodermas também possuem a capacidade de degradar substratos mais complexos, tais como pectinas, amidos, e celulosas, que também

proporcionam ou auxiliam em seu crescimento (MACHADO, 2012).

Figura 6- *Trichoderma harzianum*. A- Colônia cultivada em placa de petri; B- Organismo em microscopia eletrônica (MACHADO, 2012).

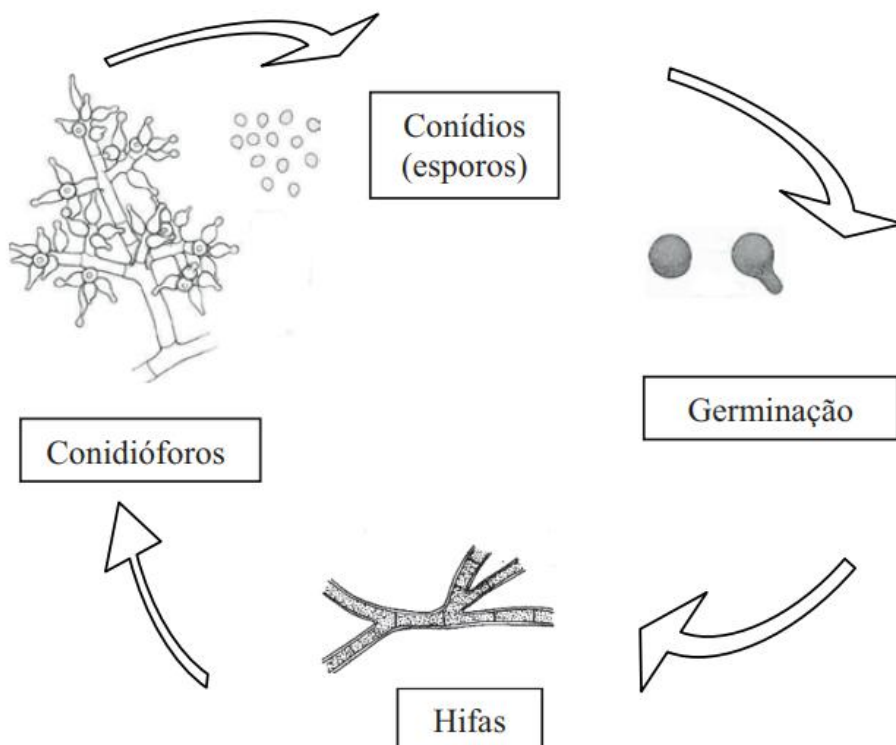
Quanto à forma de respiração, são considerados anaeróbios facultativos, e dessa maneira conseguem desenvolver suas funções vitais sem a presença de oxigênio no ambiente, mas que também o utilizam caso este esteja disponível; fato esse que contribui para que a espécie tenha capacidade de se desenvolver em diversos tipos de habitats, tanto naqueles com condições



favoráveis, assim como outros mais extremos.

Com relação à sua forma de reprodução (elucidada na imagem 5), apresentam-se como organismos assexuados; isto é, reproduzem através da disseminação de esporos, que são estruturas formadas a partir de células conidiógenas, contidas ou não em estruturas especializadas, ou por fragmentação do talo do micélio (MACHADO, 2012).

Figura 7- Ciclo de vida assexual de *Trichoderma* (Kruger, 1995).



Ademais, sabe-se que além das características apresentadas, o fungo conhecido como agente de controle biológico se destaca nesse quesito por apresentar as seguintes particularidades: crescimento rápido, facilidades de isolamento em meios de cultura, desenvolvimento de novas técnicas de proliferação e sobrevivência no solo e na rizosfera (RESENDE, 2004).

O crescimento do fungo está diretamente associado à fatores abióticos, como pH, temperatura, umidade, e substrato (KOIKE, 2003). Com relação ao pH, Marques (2014) sugere que tais fungos desenvolvem-se melhores quando ácidos (entre 4,5 à 5,3); já em relação à temperatura, a faixa ideal é entre 25-30° C, mas que em determinadas situações, pode sobreviver em temperaturas que ultrapassam 40°C (OLIVEIRA, 2021); quanto à umidade o recomendado varia em torno de 60±10%; por fim, para o substrato, estudos realizados pela EMBRAPA apontam a facilidade do fungo para colonizar vários tipos de substratos em diversos ecossistemas, entretanto, o aumento da matéria orgânica se faz benéfico à espécie nesse quesito (MEYER, 2020).

Quanto as condições de isolamento em meio de cultura, Meyer (2020) aponta os meios :OA - oatmeal agar (aveia); PDA- batata-dextrose; MA2 2%- extrato de malte, e SNA- meio sintético pobre como os principais meios de cultura utilizados para inoculação de espécies do gênero *Trichoderma*. Ademais, segundo o autor, a composição nutricional do meio de cultura bem como os fatores físicos e ambientais de produção exerce uma forte influência na formação, rendimento e qualidade dos organismos cultivados, sendo que os principais fatores que podem impactar as culturas dos fungos são: temperatura, viscosidade, pressão osmótica, pH, e nutrientes.

Com relação às técnicas para produção de *Trichoderma* em grande escala que atenda as expectativas comerciais, é de conhecimento a existencia de técnicas que vão desde a inoculãõ em sementes, diretamete no solo, ou até mesmo no vegetal já emergido, e etc. Dessa forma, estudos realizados por Steffen (2019) destaca que é comum o uso de grãos de cereais (como arroz e sorgo) para multiplicação das diferentes espécies do gênero, devido à praticidade, disponibilidade, rendimento e ao baixo custo. Além disso, há ainda multiplicação do isolado fúngico em substratos orgânicos comerciais, que vem sendo desenvolvido como uma alternativa simples e eficiente para o processo de multiplicação de culturas de fungos do gênero *Trichoderma* em condições controladas. Dessa forma, é de consenso para a comunidade científica que cada vez mais, estudos estão sendo realizados para o desenvolvimento de técnicas que favoreçam o crescimento e proliferação de tal organismo.

Por fim, referente a atuação e sobrevivência do *Tichoderma*, é de conhecimento que em plantas jovens de milho, a colonização por *Tichoderma harzianum* se dá através da colonização das hifas nos pêlos radiculares. Além disso, nos ensaios realizados em solos ácidos a alcalinos, foi constatado que *Trichoderma harzianum* foi capaz de colonizar todas as partes do sistema radicular tanto em plantas ornamentais, como em semnetes de feijão e milho. Com relação ao solo e rizosfera, pode se estabelecer nas raízes, e crescer em conjunto com o sistema radicular, permanecendo ativo durante o ciclo de uma cultura anual e, ainda, ter dominância localizada na

rizosfera de alguns solos durante todo ano (RESENDE, 2004).

2.4.3.2. *Trichoderma harzianum* como Bioestimulante

Em busca de alternativas a fim de substituir ou reduzir o uso de insumos químicos, vem se consolidando cada vez mais a utilização de produtos de cunho biológico, sobretudo aqueles cuja composição se baseia em microrganismos.

Sobre esses microrganismos, destaca-se uma espécie de fungo, denominada *Trichoderma harzianum*, que se caracteriza como a espécie mais pesquisada em casas de vegetação, campo e laboratório, tanto no Brasil, como em países de primeiro mundo, como Portugal (MACHADO, 2012).

A espécie se destaca, principalmente por apresentar vasta diversidade de ambientes, e facilidade de cultivo, além da capacidade de crescimento acelerado em diversos substratos, e sobretudo por não se apresentarem como uma espécie patogênica.

Ademais, uma das características que contribuem para seu destaque é a capacidade de utilizar a celulose como fonte de obtenção de carbono, processo que envolve, no mínimo três tipos de atividades celulolíticas: endo- β -1,4-glucanase, exo- β -1,4-glucanase, e β -1-4-glicosidase, sendo que seu sucesso se dá, principalmente devido as ações de controle de doenças e pragas, além de promoção ao crescimento de plantas (BETTIOL, 1991).

Por fim, têm-se os mecanismos de ação para controle de doenças de plantas causadas por fitopatógenos com o uso de fungos do gênero *Trichoderma*, que incluem: parasitismo, antibiose, competição, e indução de defesas ou resistência nas plantas (LUCON, 2014).

Para o mecanismo denominado parasitismo, os fungos se alimentam do fitopatógeno, enfraquecendo-o ou causando a sua morte. Quanto ao segundo mecanismo, antibiose, o antagonista sintetiza uma ou mais substâncias com potencial de inibir o crescimento ou a reprodução do fitopatógeno no ambiente ao qual está inserido, ou na planta. Já na competição, o patógeno e o antagonista vão disputar os mesmos recursos para sobreviver. Por conseguinte, com relação o último mecanismo, apresenta-se como uma forma de prevenção contra os organismos patógenos, no qual os fungos *Trichoderma* vão agir como indutores de resistência em plantas, possibilitando com que essas criem “barreiras” de proteção contra diversos organismos prejudiciais (tais como vírus, bactérias e fungos) (LUCON, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os parâmetros biológicos do solo utilizado em área de plantio da cultura milho (*Zea mays*) safrinha para se verificar a influência da aplicação de bioestimulantes de solo a base de *Trichoderma harzianum*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar os parâmetros biológicos do solo a partir das análises de Respiração basal do solo (RBS); Biomassa microbiana (BM); Carbono orgânico total (COT); Quociente metabólico (qCO₂); Quociente microbiano (qMic) e enzima β -glicosidase.
- Avaliar a influência dos bioestimulantes utilizados no metabolismo do solo;
- Determinar os índices de qualidade do solo da unidade agrícola do IFSP campus Barretos quando submetidos aos bioestimulantes (produto 1, e produto 2).

4 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Os experimentos conduzidos neste trabalho foram realizados na instituição de ensino Instituto Federal campus Barretos, unidade agrícola (Estr. Nadir Kenan, Barretos – SP), sendo que toda a área de plantio da cultura utilizada, bem como todas as análises, realizadas no laboratório de microbiologia agrícola (MICA), situam-se na mesma instituição.

O cronograma previsto para execução do trabalho foi desenvolvido em três momentos: pré-plantio, plantio e pós-colheita, sendo que para cada momento foram realizadas coletas de solos em quantidade suficiente para a execução de todas as análises (Respiração basal do solo, Biomassa microbiana, Carbono orgânico total, Quociente metabólico, Quociente Microbiano e B-glicosidade) para garantir as mesmas condições de campo; em três áreas distintas, de acordo com os tratamentos a serem analisados (Testemunha, Produto 1, e Produto 2). Ademais, para execução de todas as análises, realizou-se a metodologia de umidade na capacidade de campo, descrita por Silva (2007), para a determinação desta que tem papel crucial em todas as análises aqui desenvolvidas.

Com relação ao primeiro momento (pré-plantio), as amostras foram coletadas contemplando toda a área de plantio (destacada na imagem 6) . Já para o segundo e terceiro momento, as coletas foram realizadas de acordo com as delimitações existentes para cada tratamento (Imagem 7), bem como para área testemunha (sem tratamento). Como pode ser

evidenciado na imagem 7, cada sub-área representada por um número corresponde a um tratamento e sua concentração que são apresentados na tabela 1.

Figura 8- Propriedade pertencente ao IFSP campus Barretos unidade agrícola. Área de plantio destacada.



Imagem 9- Áreas delimitadas de acordo com o tratamento para segundo e terceiro momento de coletas

	2	3	4	5	1	
ESTRADA	4	5	1	2	3	MILHO PARCELAS GRANDES
	3	4	5	1	2	
	1	2	3	4	5	
			ESTRADA			

Tabela 3- Tratamentos e concentrações evidenciados nas áreas delimitadas para segundo e terceiro momento de coletas.

Número para delimitação de área	Produto	Concentração
1	Testemunha	
2	Produto 1	50g
3	Produto 1	100g
4	Produto 2	50g
5	Produto 2	100g

4.1 Coleta

A coleta de solo foi realizada a partir de amostras compostas, sendo que para cada amostra são coletadas 10 sub-amostras em uma profundidade de 10cm com o auxílio de um trado e uma marreta. Após, as amostras foram acomodadas em um saco plástico devidamente identificado, e encaminhadas para o laboratório de microbiologia agrícola. Posteriormente, as amostras recém coletadas foram peneiradas em malha de 2 mm, transferidas para bandejas com a devida identificação para seguir as próximas etapas, de acordo com a análise a ser realizada (SILVA, 2007).

4.2 Respiração Basal do Solo (RBS)

Após o preparo das amostras, essas foram pesadas (50g) e acomodadas em béqueres, sendo que para cada tratamento, foram realizadas 4 repetições. Depois de pesadas e identificadas, cada amostra foi acomodada em um recipiente de vidro com vedação hermética, juntamente com 10mL de NaOH 1 M (que também será acondicionado em outro béquer), seguido de vedação e encaminhado para incubadora BOD em temperatura de 26°C por um período de 10 dias. Para as amostras Branco, realizou-se o mesmo procedimento descrito anteriormente, sem a adição da amostra de solo.

Após esse período, as amostras foram retiradas do recipiente, e no béquer contendo a solução de NaOH foi adicionado 2 mL da solução de BaCl₂ para a precipitação do CO₂. Posteriormente, acrescentou-se 2 gotas de fenolftaleína (solução indicadora), seguida do processo de titulação dessa solução com HCl (0,5 M) para determinação do índice de respiração basal do solo (SILVA, 2007).

Para a determinação da RBS realizou-se a seguinte equação:

$$\text{RBS (MG de C-CO}_2 \text{ Kg-1 solo hora-1)} = (((V_b - V_a) \cdot M \cdot 6.1000) / P_s) / T$$

Onde: RBS= Carbono oriundo da respiração basal do solo;

Vb (mL) = Volume de ácido clorídrico gasto na titulação da solução controle;

Va (mL) = Volume gasto na titulação da amostra;

M = Molaridade exata de HCl;

Ps (g) = Massa do solo seco;

T = Tempo de incubação da amostra em horas.

4.3 Carbono Orgânico Total (COT)

Os procedimentos aqui descritos foram baseados nos procedimentos propostos por Lisboa (2009), e por isso deverão ser realizados em duas etapas, sendo uma para amostras “branco”, e outra contendo amostras de solo. Com relação às amostras “branco”, inicialmente deve-se acrescentar 20ml de K₂Cr₂O₇ (0,0667mol/L⁻¹) em um tubo de digestão, e logo em seguida aquecer em chapa aquecedora sob temperatura de 150°C por um período de 5 minutos. Logo em seguida, deixou-se os tubos em repouso para atingir temperatura ambiente. Após, foi adicionado 80ml de água destilada, e posteriormente, 2ml de ácido ortofosfórico, além de 3 gotas de ferroína 0,025ml/L⁻¹(solução indicadora). Por fim, titulou-se as amostras preparadas anteriormente com a solução de sulfato ferroso amoniacal 0,05mol L⁻¹ para determinação posterior.

Para as amostras contendo solo, inicialmente pesou-se 20g de solo recém coletado e encaminhou-as em estufa por um período de 12 horas em temperatura de 105°C. Após esse período, pesou-se 0,5g de solo e transferiu essas para um tubo de digestão juntamente com 20 mL de dicromato de potássio 0,0667 mol/l⁻¹. Em seguida, as amostras foram aquecidas em chapa aquecedora sob temperatura de 150°C por um período de 5 minutos. Após obter temperatura branda, foi adicionado cerca de 80ml de água destilada. Posteriormente, pipetou-se 50ml da amostra preparada anteriormente e acrescentou-se 2 ml de ácido ortofosfórico e 3 gotas de ferroína para execução de titulação com sulfato ferroso amoniacal para determinação final, que será obtida através do seguinte cálculo:

$$\text{COT} = 0,003 \cdot \text{Vd} \cdot (40 - \text{Va}) \cdot 40 / \text{Vb} \cdot 10$$

Onde:

Vd- Volume total das soluções de dicromato de potássio adicionado na digestão da amostra em ml;

Va- Volume da solução de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da amostra;

Vb- Volume da solução de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação do branco;

0,003- Miliequivalente da massa de Carbono

10- Transformação de % g para kg;

m- Massa do solo em g.

4.4 Biomassa Microbiana

O método utilizado baseou-se nos trabalhos de Lisboa (2009) e foi determinado através do

processo de fumigação. Para amostras fumigadas, pesou-se 49g de solo e acondicionou-se em um béquer de 1000ml, adicionando posteriormente 0,25 ml de CHCl_3 (clorofórmio) e tampando o recipiente imediatamente para deixar em repouso por um período de 12 horas. Após o período estabelecido anteriormente, o recipiente foi aberto em capela de exaustão por um período de no mínimo 4 horas para total evacuação do clorofórmio utilizado. Em seguida, adicionou-se 1g de solo não fumigado junto com o solo preparado anteriormente. No mesmo recipiente, foi adicionado outro béquer contendo 8ml de NaOH 1mol/l, seguido por vedação com parafilm, papel alumínio e elásticos para vedação completa. Em seguida, as amostras foram incubas em BOD em temperatura de 23°C por um período de 10 dias.

Para amostras não fumigadas, pesou-se 50g de solo e acondicionou-os em um béquer de 1000ml, juntamente com outro béquer contendo 8 ml de NaOH 1M/L para posterior incubação com tempo e temperatura igual às amostras fumigadas. Para amostras “branco”, acrescentou-se 8ml de NaOH em um béquer vazio incubando-os também pelo mesmo período e temperatura das demais amostras.

Após esse período, acrescentou-se 3ml da solução de BaCl_2 (cloreto de bário) 10% e 3 gotas de fenolftaleína 2% na solução de NaOH de todas as amostras (incluindo amostras branco), seguindo a titulação das amostras com a solução de HCl 1 mol/L.

4.5 Quociente metabólico ($q\text{CO}_2$)

A determinação do quociente metabólico, baseada nos trabalhos de Silva (2007) foi realizada a partir dos valores obtidos para análises de RBS e BM, onde:

$$Q_{\text{CO}_2} = \text{RBS} / \text{CBM}$$

Onde: RBS= Taxa de respiração basal do solo (mg de C-CO₂ kg⁻¹ dia⁻¹)

BM= Taxa de carbono da biomassa microbiana (mg de CO₂ kg⁻¹).

4.6 Quociente Microbiano ($q\text{Mic}$)

A determinação do quociente microbiano, baseada nos trabalhos de Silva (2007) foi realizada a partir dos valores obtidos para análises de BM e COT, onde:

$$q_{\text{Mic}} = \text{BM} / \text{COT}$$

Onde: BM= Taxa de carbono da biomassa microbiana (mg kg⁻¹)

COT= Taxa de carbono orgânico total (mg kg⁻¹).

4.7 β -glicosidase

Para execução da análise referente à β -glicosidase, fez-se necessário o preparo prévio das soluções de p-nitrofenil-B-D-glicosídeo (PNG 0,05 M), tampão MUB (pH 6), tampão Tris-Hydroxymethyl-Amino-Metano (THAM 0,1 M L⁻¹, pH 12), e solução padrão de nitrofenol.

Quanto à solução PNG, realizou-se a dissolução de 0,654g de PNG em 40 mL de MUB pH

6 diluído para 50 mL com o mesmo tampão, sendo estocado, posteriormente, sob refrigeração num período de 10 dias.

Para preparo do tampão MUB, foi dissolvido 12,1g da solução THAM, 11,6g de ácido maleico, 14g de ácido cítrico, e 6,3g de ácido bórico em 488 mL de hidróxido de sódio (1 M). Em seguida, realizou-se a diluição da solução para 1L de água; posteriormente, adicionou-se 200 mL da solução estoque MUB em um béquer (500mL), realizando a titulação da solução a pH 6 com ácido clorídrico (1M), transferindo, posteriormente para um frasco volumétrico de 1L, com ajuste de volume para 1L de água.

Já para preparo da solução THAM, fez-se necessária a dissolução de 12,2g de THAM em 800 mL de água, ajustando o pH para 12 através do método de titulação com NaOH (0,5M), e por fim realizando a diluição da solução para 1L com água.

Para a solução padrão de nitrofenol, foi dissolvido 1g de p-nitrofenol em 700 mL de água, realizando a diluição posterior para 1L com água.

Após preparo das soluções indicadas anteriormente, pesou-se 1g de solo para cada amostra, adicionando-as em um Erlenmeyer (50 mL) com 4 mL do tampão MUB, e 1 mL da solução PNG, para, em seguida, incubar em temperatura de 37°C. Após 1 hora, foi adicionado 1 mL de CaCl₂ (0,5 M L⁻¹), e 4 mL do tampão THAM. Logo após, filtrou-se a suspensão de solo com auxílio de um papel filtro n°2. Para amostra branco, foi realizado os mesmos procedimentos descritos anteriormente, com acréscimo da solução de PNG após incubação.

Por último, realizou-se a leitura das amostras obtidas após o processo de filtração em espectrofotômetro a 410nm para determinar o conteúdo de p-nitrofenol através de uma curva de calibração obtida com os seguintes padrões: 0, 10, 20, 30, 40 e 50 µg.

Para determinação da curva, foi realizada a pipetagem de 1 mL da solução padrão de nitrofenol em 100 mL de água. Logo, foram pipetadas alíquotas de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 mL de tampão THAM; em seguida as alíquotas foram filtradas em papel n° 2.

A atividade da enzima β -glicosidase é expressa em µg de p-nitrofenol produzido por hora por grama de solo (µg p-nitrofenol h⁻¹ g⁻¹ solo) (LISBOA, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através das análises de Respiração basal do solo, Biomassa microbiana, Carbono orgânico total, Quociente metabólico, Quociente microbiano, e enzima β-glicosidase em solo utilizado para sistemas agrícolas submetido à ação de dois bioestimulantes (produto 1 e produto 2) encontra-se na tabela 4.

Tabela 4 - Resultados de solo submetido a bioestimulantes perante as análises de RBS (Respiração basal do solo), COT (Carbono orgânico total), BM (Biomassa microbiana), qCO₂ (Quociente metabólico), qMic (Quociente microbiano) e β- glicosidase.

Análises	Pré-Plantio		Plantio		Pós-colheita		
	Test.	Test.	Prod. 1	Prod. 2	Test.	Prod. 1	Prod. 2
RBS (mg C/kg)	5,80 ±0,97	4,82 c ±0,83	9,54 a ±0,36	7,29 b ±0,38	1,50 b ±0,62	3,68 a ±0,52	1,20 b ±0,50
COT (g/kg)	7,50 ±0,82	13,46 b ±0,61	15,66 a ±0,40	12,55 b ±0,39	4,58 a ±0,16	5,47 a ±1,78	4,15 a ±0,05
BM (mg/kg)	82,79 ±20,59	79,38 b ±8,30	137,63 a ±12,65	111,91 a ±15,92	74,80 a ±33,00	112,47 a ±18,08	66,54 b ±10,95
qCO ₂ (mgC-CO ₂ / mgCBM ¹)	0,08 ±0,03	0,06 a ±0,01	0,08 a ±0,02	0,08 a ±0,02	0,03 a ±0,02	0,57 a ±0,94	0,03 a ±0,02
qMic (%)	9,90 ±2,93	6,38 b ±1,53	10,04 a ±1,57	7,51 ab ±1,03	16,52 a ±7,63	24,01 a ±8,39	26,47 a ±19,26
β- glicosidase (μg p- nitrofenol g- 1 solo h-1)	-	350,77 b ±2,12	409,04 a ±42,91	315,85 b ±0,22	57,36 b ±3,63	171,69 a ±25,33	83,98 b ±13,41

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Uma primeira observação a ser feita é que no período de pré-plantio não houve o uso dos produtos bioestimulantes, assim os dados apresentados na tabela 2 para este período refletem apenas as análises do solo como testemunha.

Como observado, os resultados para respiração basal do solo foram maiores no período de plantio, sendo que a atividade de organismos evidenciada pela emissão de CO₂ neste período pode estar relacionada à presença da cultura, que disponibiliza fontes de nutrientes necessários para a manutenção de atividades metabólicas dos organismos ali presentes, sendo que, segundo Moura (2015), a respiração depende do estado fisiológico da célula, que é influenciada por alguns fatores, tais como: disponibilidade de nutrientes, temperatura, umidade, etc. Com relação à presença dos bioestimulantes, o produto 1 apresentou maior resultado comparado ao produto 2. No que se refere ao período da pós-colheita, verificou-se que houve redução dos valores da respiração basal do solo em todos os tratamentos (utilização dos produtos 1 e 2, respectivamente), sendo que o produto 1 continuou com resultados mais elevados estatisticamente; uma possível justificativa para isto se baseia nas condições de cobertura presente no período de pós-colheita, uma vez que não havia cobertura sob o solo, diferentemente do período de plantio. Resultados semelhantes foram evidenciados por Wendling (2013), sendo que áreas de monocultivo com palhada obtiveram melhores resultados para análises de respiração basal do solo e respiração acumulada, o que pode se dar ao fato de que os microrganismos apresentam maior área de contato com o material vegetal quando a palhada encontra-se incorporada ao solo, favorecendo então sua permanência no local.

Na análise dos dados referentes ao carbono orgânico total, no que se refere à comparação entre os dois períodos finais (plantio e pós-colheita), observou-se que houve um declínio na pós-

colheita. Isto possivelmente devido à exposição do solo ao intemperismo e a perda de carbono na forma de CO₂ gasoso, causando efeitos negativos como a ruptura dos agregados do solo, com exposição da matéria orgânica (que antes encontrava-se protegida fisicamente no interior dos agregados), proporcionando menores valores de carbono orgânico total na camada superficial do solo. Valores semelhantes foram verificados por Loss (2015), que evidenciou que os resultados baixos se deram, principalmente devido ao revolvimento do solo advindo do sistema de plantio convencional. Quanto aos dois bioestimulantes utilizados no presente estudo, para essa análise, os resultados não apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey apenas no período de pós-colheita, sendo que o produto 1 apresentou resultados mais expressivos no plantio.

Perante os resultados observados para biomassa microbiana, foi possível identificar que o período de plantio apresentou maiores resultados em ambos os tratamentos comparados à colheita, evidenciando que há maiores índices de atividades microbiológicas no solo neste período. Com relação ao período de pós-colheita, foi observado que o produto 2 apresentou resultados menores que a testemunha e o produto 1, o que pode estar relacionado ao fato de que este não apresenta condições para a permanência de sua atividade no solo.

No que se refere ao quociente metabólico (qCO₂), sabe-se que em ambientes cujos valores apresentam-se altos estão relacionados às condições de estresse do solo, enquanto aqueles que apresentam valores menores estão associados a ambientes estáveis (SILVA, 2010). Os valores de quociente metabólicos baixos demonstram a retenção de carbono incorporado na matéria orgânica (SILVA, 2007). Isso pôde ser visualizado a partir dos resultados de qCO₂ em ambos os períodos e para todos os tratamentos.

No que se refere ao quociente microbiano, quanto maior o seu valor, maior a quantidade de carbono da biomassa microbiana frente ao carbono total disponível no solo, demonstrando a eficiência desses microrganismos na utilização dos compostos orgânicos. Ademais, segundo Dadalto (2015), o quociente microbiano reflete ainda, a quantidade de reserva de carbono orgânico total no solo, sendo que áreas com baixa atividade microbiana apresentam valores baixos de quociente microbiano, indicando menor reserva de compostos. Os resultados permitiram observar que todas as áreas apresentaram valores mais elevados no período de pós-colheita.

Quanto ao qMic, cabe destacar que no período de plantio, aquele em que as plantas requerem maior quantidade de nutrientes e de matéria orgânica, o produto 1 apresentou os melhores resultados quando comparado aos outros dois tratamentos (testemunha e produto 2), o que evidenciou a eficiência dos organismos presentes nesse produto quanto ao auxílio nos processos de incorporação de compostos orgânicos.

Por fim, para os resultados referentes à enzima β-glicosidase percebeu-se que o período de plantio apresentou os resultados mais elevados em todos os tratamentos quando comparado ao período de pós-colheita. Uma explicação plausível para esses resultados é que o material orgânico (palhada) presente na superfície anteriormente a esse período foi devidamente decomposto, uma

vez que a enzima β -glicosidase atua na degradação da celulose e uma concentração elevada dessa corrobora com essa ideia. O produto 1 apresentou maior valor para essa análise, indicando ser o melhor tratamento no auxílio à manutenção das condições de vida dos organismos responsáveis por disponibilizar a enzima no solo (PAZUTTI, 2012). Ademais, cabe ressaltar que os valores aqui analisados para essa análise mostraram-se superiores aos obtidos por Mendes (2019), o que pode ser justificável, uma vez que a autora apresenta esses dados para latossolos de cerrado com textura argilosa, ou seja, um solo diferente do que aqui foi utilizado. Por isso, apesar de se mostrar fundamental para análise de qualidade dos solos, as BioAS ainda necessitam de ajustes realizados para cada tipo de solo.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, foi possível avaliar diferentes parâmetros biológicos do solo: Respiração Basal do Solo (RBS), Carbono Orgânico Total (COT), Biomassa Microbiana (BM), Quociente Metabólico (qCO_2), Quociente Microbiano ($qMic$) e enzima β -glicosidase (BioAS). No que se refere à influência dos bioestimulantes utilizados no metabolismo do solo pode-se concluir que para o período de plantio o produto 1 apresentou resultados estatisticamente maiores nas variáveis de Respiração basal do Solo (RBS), Carbono Orgânico Total (COT) e enzima β -glicosidase. Já para o período de pós-colheita, foi possível concluir que o produto 1 apresentou resultados maiores comparado ao produto 2 para a análise de RBS e β -glicosidase. O produto 2 não apresentou em nenhum período resultados significativamente maiores comparado ao produto 1.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERGONI, Leide; PELAEZ, Victor. Da revolução verde à agrobiotecnologia: ruptura ou continuidade de paradigmas?. **Revista de Economia**, v. 33, n. 1, 2007.

AMBROSIO, A. S., **Açúcar natural diminui efeitos da seca na cultura de milho**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/64188194/acucar-natural-diminui-efeitos-da-seca-na-cultura-do-milho>. Acesso em: 23 ago. 2021.

AGRÔNÔMICO, Instituto. **Latossolos**. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/solosp/pdf/Latossolos.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2021.

BARROS, José F. C. **A Cultura do Milho**. 2014. 52 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora, 2014.

BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas. **Embrapa Meio Ambiente-Livro científico (ALICE)**, 1991.

BRANCO, Pércio de Moraes. **Rochas**. 2015. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/CPRM-Divulga/Canal-Escola/Rochas-1107.html>. Acesso em: 04 jul. 2015.

CARNEIRO, Marco Aurélio Carbone et al. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa e atividade microbiana do solo em duas cronosseqüências de reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 621-632, 2008.

CLINE, M. G. Logic of the new system of soil classification. *Soil Science*, v. 96, p. 17-22, 1963.

CONAB. **Estimativa indica aumento na produção de grãos na safra 2021/22, com previsão em 288,61 milhões de toneladas**. 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4316-estimativa-indica-aumento-na-producao-de-graos-na-safra-2021-22-com-previsao-em-288-61-milhoes-de-toneladas>. Acesso em: 01 nov. 2021.

CRUZ, José Carlos. **Manejo da cultura do Milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 2006.

DADALTO, Juliana P.. SISTEMA DE PREPARO DO SOLO E SUA INFLUÊNCIA NA ATIVIDADE MICROBIANA. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal,, v. 35, n. 3, p. 506-513, jun. 2015.

DO AMARAL, E. F.; DA SILVA, J. R. T. Pedologia: uma visão sintética. **Embrapa Acre-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 1995.

DOEBLEY, J.F. Molecular evidence for gene flow among Zea species. *BioScience*, v.40, p.443-448, 1990.

DOS SANTOS, Humberto Gonçalves et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018., 2018.

GUIMARÃES, Thalita Luzia Barros. **DETERMINAÇÃO DA COR DO SOLO PELA CARTA DE MUNSELL E POR COLORIMETRIA**. 2016. 57 f. TCC (Graduação) - Curso

de Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília-Unb, Brasília, 2016.

KLOSE, Susanne. Sulfur Cycle Enzymes. In: DICK, Richard P.. **Methods of soil enzymology**. América: Sssa Book Series 9, 2011. p. 125-151.

LIMA, Valmiqui Costa; LIMA, Marcelo Ricardo. Formação do solo. **O solo no meio ambiente: abordagem para professores do ensino fundamental e médio e alunos do ensino médio**. 1ed. Curitiba: Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, p. 1-10, 2007.

LISBOA, Bruno Brito. **Parâmetros microbiológicos como indicadores de qualidade do solo em sistemas de manejo**. 2009. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

LOSS, Arcângelo. Carbono Orgânico Total e Agregação do Solo em Sistema de Plantio Direto Agroecológico e Convencional de Cebola. **Revista Ciência do Solo**, Santa Catarina, v. 01, n. 39, p. 1212-1224, mar. 2015.

MAPA. **Conceitos**. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos>. Acesso em: 01 nov. 2021.

MATOS, Alan Kardec Veloso. Revolução verde, biotecnologia e tecnologias alternativas. **Cadernos da FUCAMP**, v. 10, n. 12, p. 1-17, 2011.

MATTOS, Maria Laura Turino. Microbiologia do solo. **Embrapa Clima Temperado- Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2015.

MARQUES, Helder Ivo Pandolfi. INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Trichoderma harzianum* POR FERTILIZANTES LÍQUIDOS. **Enciclopédia Biosfera**, São Mateus, v. 10, n. 18, p. 01-06, jul. 2014.

PRETTY, J. N. (1995). **Regenerating agriculture: policies and practice for sustainability and self-reliance**. Londres: Earthscan.

KOIKE, C.M.. EFEITO DE DIFERENTES FATORES NA ESPORULAÇÃO E CRESCIMENTO DE ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP. In: CENTRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE SANIDADE VEGETAL, 1., 2003, São Paulo. **EFEITO DE DIFERENTES FATORES NA ESPORULAÇÃO E CRESCIMENTO DE ISOLADOS DE TRICHODERMA SPP**. São Paulo: Arquivo Instituto Biológico, 2003. p. 96-99.

Kruger, T.L. e Bacchi, L.M.A. (1995) - Fungos. In: Filho, A.B.; Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M., Camargo, L.E.A. - Manual de Fitopatologia. 3 ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 46-95

LISBOA, Bruno Brito. Parâmetros microbiológicos como indicadores de qualidade do solo em sistemas de manejo. 2009.

LEPSCH, Igo F. **Formação e conservação dos solos**. Oficina de textos, 2016.

LUCON, Cleusa Maria Mantovanello. **Trichoderma: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura**. São Paulo: Instituto Biológico, 2014. 35 p. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/files/pdf/cartilhas/trichoderma.pdf>. Acesso em: 09 out. 2021.

MACHADO, Daniele Franco Martins et al. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MASCARENHAS, Karina. **Principais variedades de milho usados na alimentação humana e animal**. 2019. Disponível em: <https://ufla.br/noticias/pesquisa/12714-conheca-as-principais-variedades-de-milho-usados-na-alimentacao-humana-e-animal>. Acesso em: 23 ago. 2021.

MENDES, I. de C. et al. Bioanálise de solo: aspectos teóricos e práticos. **Embrapa Cerrados- Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2019.

MERCANTE, Fábio Martins. Os microrganismos do solo e a dinâmica da matéria orgânica em sistemas de produção de grãos e pastagem. **Embrapa Agropecuária Oeste-Sistema de Produção (INFOTECA-E)**, 2001.

MERCANTIL, Gazeta. **Milho e suas riquezas – História**. 2005. Disponível em: <https://www.fiesp.com.br/sindimilho/sobre-o-sindmilho/curiosidades/milho-e-suas-riquezas-historia/>. Acesso em: 23 ago. 2021.

MEYER, Maurício Conrado. **Fungo Trichoderma é aliado no controle biológico de doenças em culturas agrícolas**. 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53541439/fungo-trichoderma-e-aliado-no-controle-biologico-de-doencas-em-culturas-agricolas>. Acesso em: 11 out. 2021.

MÓGOR, Átila F. **Biofertilizantes e Bioestimulantes: No que diferem?** 2021. Disponível em: <https://maissoja.com.br/biofertilizantes-e-bioestimulantes-no-que-diferem/>. Acesso em: 22 set. 2021.

MOURA, Juliana Augusta. Respiração basal e relação de estratificação em solo cultivado com citros e tratado com resíduos orgânicos no estado de Sergipe. **Semina**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 731-745, abr. 2015.

OLIVEIRA, A.L.M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J.I., **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 40p., 2003.

OLIVEIRA, Laís Lacerda Brasil de. Influência da Temperatura e Radiação Ultravioleta no Desenvolvimento de Isolados de Trichoderma spp. **Revista Brasileira de Meteorologia**, Fortaleza, v. 34, n. 3, p. 423-430, 11 out. 2021.

PAZUTTI, Leonarod Vitor Belo. **Desenvolvimento de metodologia de baixo custo para análise de B-glicosidade em solos**. 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/113968/1/bot092-12.pdf>. Acesso em: 24 ago. 2021.

PEREIRA, Marcos Gervasio; ANJOS, Lúcia Helena Cunha dos; PINHEIRO JUNIOR, Carlos Roberto; PINTO, Luiz Alberto da Silva Rodrigues; SILVA NETO, Eduardo Carvalho da; FONTANA, Ademir. Formação e caracterização dos solos. In: TULLIO, Leonardo. **Formação, Classificação e Cartografia dos Solos**. Ponta Grossa: Atena, 2019. p. 01-20.

PERES, Terezinha Bonanho. AGROTÓXICOS USADOS NA CULTURA DO ALGODÃO: EFEITO NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS DESIDROGENASE E ARILSULFATESE DO SOLO. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 363-369, set. 2004.

PRODUÇÃO mundial de milho por país. 2021. Disponível em: <https://www.atlasbig.com/pt-br/paises-por-producao-de-milho>. Acesso em: 26 ago. 2021.

RESENDE, Maria de Lourdes. INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO UTILIZANDO O Trichoderma harzianum COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO. **Ciências**

Agrotecnologia, Lavras, v. 28, n. 4, p. 793-798, 11 out. 2021.

SANTOS, Carlos Eduardo Weber dos. **DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO DE ALTO E MÉDIO POTENCIAL PRODUTIVO**. 2010. 55 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes., Universidade Federal de Pelotas., Pelotas, 2010

SANTOS, Humberto Gonçalves dos *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília: Embrapa, 2018. 355 p.

SILVA, Taís da. **USO DE BIORREGULADORES E BIOESTIMULANTES NA AGRICULTURA**. 2019. 45 f. Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. **Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO₂)**. Comunicado técnico 99. Seropédica: Embrapa agrobiologia, 2007.

SILVA, Rubens Ribeiro da. BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO SOB DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO NA REGIÃO FISIAGRÁFICA CAMPOS DAS VERTENTES – MG. **Brasil Ciência do Solo**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 1585-1592, out. 2010.

STEFFEN, Gerusa Pauli Kist. **Metodologia para multiplicação de Trichoderma sp. em substratos orgânicos**. Porto Alegre: Seapdr/Ddpa, 2019. 23 p.

TEIXEIRA, Paulo César. Carbono orgânico total. In: TEIXEIRA, Paulo César. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2017. p. 360-367.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. **Tópicos em ciência do solo**, v. 2, n. 3, p. 195-276, 2002.

WENDLING, Beno. RESPIRAÇÃO MICROBIANA (BASAL E ACUMULADA) EM SOLOS INCUBADOS COM PALHADA DE CANA-DE-AÇÚCAR E ADUBAÇÃO NITROGENADA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34., 2013, Florianópolis. **Resumo [...]**. Florianópolis: Ciência do Solo, 2013. p. 01-04.

ZIMBACK, Célia Regina Lopes. Formação dos solos. **GEPAG. Botucatu-SP**, 2003.