Contemporânea
Contemporary Journal
Vol. 5 N°. 10: p. 01-18, 2025
ISSN: 2447-0961

Artigo

MODIFICAÇÕES METODOLÓGICAS DO TESTE DE GERMINAÇÃO EM PAPEL GERMITEST PARA AVALIAR A COMPATIBILIDADE E O SINERGISMO ENTRE BIOINSUMOS INOCULADOS EM SEMENTES

METHODOLOGICAL MODIFICATIONS OF THE GERMITEST PAPER GERMINATION TEST TO EVALUATE COMPATIBILITY AND SYMERGISM BETWEEN BIOINPUTS INOCULATED IN SEEDS PLANT GROWTH-PROMOTING MICROORGANISMS IN ORGANIC CREOLE CORN PRODUCTION SYSTEM

MODIFICACIONES METODOLÓGICAS DEL ENSAYO DE GERMINACIÓN EN PAPEL GERMITEST PARA EVALUAR LA COMPATIBILIDAD Y SIMERGISMO ENTRE BIOINPUTOS INOCULADOS EN SEMILLAS

DOI: 10.56083/RCV5N10-057
Receipt of originals: 9/9/2025
Acceptance for publication: 9/29/2025

Júlia Torres Gomes
Mestre em Ciências Agrárias
Instituição: Universidade Federal de São João del Rei
Endereço: Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil
E-mail: juliatgomes@gmail.com

Gleyce Aparecida dos Santos Moreira
Mestre em Ciências Agrárias
Instituição: Universidade Federal de São João del Rei
Endereço: Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil
E-mail: gleyceapsantos@hotmail.com

Mônica Matoso Campanha
Doutora em Fitotecnia
Instituição: Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil
E-mail: monica.matoso@embrapa.br

Walter José Rodrigues Matrangolo
Doutor em Ecologia
Instituição: Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil
E-mail: walter.matrangolo@embrapa.br

Christiane Abreu de Oliveira Paiva
Doutora em Biologia Vegetal
Instituição: Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil
E-mail: christiane.paiva@embrapa.br

Ivanildo Evódio Marriel
Doutor em Agronomia
Instituição: Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil
E-mail: ivanildo.marriel@embrapa.br

Francisco Adriano de Souza
Doutor em Ecologia de Plantas e Microrganimos
Instituição: Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil
E-mail: francisco.adriano@embrapa.br

RESUMO: O mercado de bioinsumos vem apresentando crescimento anual global. E a diversidade de microrganismos que compõem esses produtos e diversa e nem sempre compatível, sendo necessário desenvolver métodos para avaliar a compatibilidade desses produtos para uso conjunto. Este trabalho teve por objetivo ajustar metodologia de germinação de sementes em papel Germitest, proposta por Calvillo-Aguilar et al. (2023) para avaliar o efeito da interação entre microrganimos e plantas cultivadas, visando desenvolver metodologia rápida e de baixo custo para avaliar a compatibilidade e o sinergismo da inoculação conjunta de bioinsumos comerciais em sementes de milho. Testamos a metodologia através de um experimento fatorial completo envolvendo a combinação de três grupos de microrganismos: (A) Bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* CMS 11 e CMS 18; (B) bactérias solubilizadoras e mineralizadoras de fósforo do gênero *Bacillus megaterium* BRM 119 e *Bacillus subtilis* BRM 2094; e (R) fungos micorrízicos arbusculares do gênero *Rhizoglomus intraradices*. Aos 14 dias após a germinação, a inoculação conjunta dos três microrganismos aumentou significativamente o desenvolvimento das raízes, superando todas as combinações par a par e inoculação isolada. Para a parte aérea, as interações AB e AR e R apresentaram se superiores aos demais tratamentos. A metodologia do papel gemitest se mostra viagem para avaliar a compatibilidade e o sinergismo entre bioinsumos comerciais. Chamamos a importância da seleção de soluções nutritivas que permitam a expressão da função de cada grupo de microrganismos.

PALAVRAS-CHAVE: *Azospirillum*, *Bacillus*, *Rhizoglomus*, milho, co-inoculação.

ABSTRACT: The bioinput market has been experiencing annual global growth. The diversity of microorganisms that make up these products is diverse and not always compatible, necessitating the development of methods to assess their compatibility for joint use. This study aimed to adapt the seed germination methodology on Germitest paper, proposed by Calvillo-Aguilar et al. (2023), to evaluate the effect of the interaction between microorganisms and cultivated plants. Our goal was to develop a fast, simple, low-cost methodology to assess the compatibility and synergism of the combined inoculation of different commercial bioinputs in maize seeds. We tested the methodology through a full factorial experiment involving the combination of three groups of microorganisms: (A) diazotrophic bacteria of the genus *Azospirillum* CMS 11 and CMS 18; (B) phosphorus-solubilizing and mineralizing bacteria of the genera *Bacillus megaterium* BRM 119 and *Bacillus subtilis* BRM 2094; and (R) arbuscular mycorrhizal fungi of the genus *Rhizoglomus intraradices*. At 14 days after germination, the combined inoculation of the three groups of microorganisms significantly increased root development, surpassing all pairwise combinations and isolated inoculation. For the shoot, the AB, AR, and R interactions were superior to the other treatments. The gemitest paper methodology proves to be a useful tool for evaluating the compatibility and synergism between commercial bioinputs. We emphasize the importance of selecting nutrient solutions that allow the expression of the functions of each group of microorganisms.

KEYWORDS: *Azospirillum, Bacillus, Rhizoglomus*, corn, co-inoculation.

RESUMEN: El mercado de bioinsumos ha experimentado un crecimiento global anual. La diversidad de microorganismos que componen estos productos es diversa y no siempre compatible, lo que hace necesario el desarrollo de métodos para evaluar su compatibilidad para el uso conjunto. Este estudio tuvo como objetivo adaptar la metodología de germinación de semillas en papel Germitest, propuesta por Calvillo-Aguilar et al. (2023), para evaluar el efecto de la interacción entre microorganismos y plantas cultivadas. Nuestro objetivo fue desarrollar una metodología rápida, sencilla y de bajo costo para evaluar la compatibilidad y el sinergismo de la inoculación combinada de diferentes bioinsumos comerciales en semillas de maíz. Probamos la metodología a través de un experimento factorial completo que involucró la combinación de tres grupos de microorganismos: (A) bacterias diazotróficas del género *Azospirillum* CMS 11 y CMS 18; (B) bacterias solubilizadoras y mineralizadoras de fósforo de los géneros *Bacillus megaterium* BRM 119 y *Bacillus subtilis* BRM 2094; y (R) hongos micorrízicos arbusculares del género *Rhizoglomus intraradices*. A los 14 días después de

la germinación, la inoculación combinada de los tres grupos de microorganismos incrementó significativamente el desarrollo radicular, superando todas las combinaciones por pares y la inoculación aislada. En el brote, las interacciones AB, AR y R fueron superiores a los demás tratamientos. La metodología del papel Gemitest resulta ser una herramienta útil para evaluar la compatibilidad y el sinergismo entre bioinsumos comerciales. Se enfatiza la importancia de seleccionar soluciones nutritivas que permitan la expresión de las funciones de cada grupo de microorganismos.

PALABRAS CLAVE: *Azospirillum, Bacillus, Rhizoglomus*, maíz, coinoculación.

Artigo está licenciado sob forma de uma licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional.

1. Introdução

O mercado de bioinsumos esta experimentando um forte crescimento global, impulsionado pela substituição de insumos sistéticos por insumos biológicos e pelos benefícios econômicos e ambientais na sustentabilidade e resiliencia dos sistemas agrícolas obtidos com o uso desses insumos. As plantas respondem positivamente à inoculação com diversos grupos de microrganismos (actinomicetos, bactérias, fungos, leveduras). Esses microrganismos são isolados, selecionados individualmente e utilizados para o desenvolvimento de bioinsumos (Vermelho et al., 2025). Porém, o microbioma das plantas é diverso e complexo. Para a rizosfera do milho - estudos de co-inoculação envolvendo a inoculação simultânea de microrganismos distintos são uma tendência na agricultura.

A literatura científica reporta testes de incompatibilidade de bioinsumos com agroquímicos, mas entre microrganismos utilizados em produtos comerciais são escassos os trabalhos publicados, principalmente envolvendo espécies com semente grandes e de rápido crescimento como o

milho (Calvillo-Aguilar et al., 2023). Neste sentido, é fundamental o desenvolvimento de metodologias para avaliar a compatibilidade e o sinergismo entre diferentes grupos de microorganismos visando o desenvolvimento de inoculantes complexos e mapas de compatibilidade entre biosinsumos comerciais.

Recentemente, Calvillo-Aguilar et al. (2023) propuseram uma metodologia baseada do teste de germinação em papel Germitest para avaliar a resposta e a compatibilidade entre dois microrganismos promotores do crescimento de plantas de diferentes grupos funcionais (fungo – levedura e bactéria) com diferentes espécies de plantas. Neste contexto, este trabalho propôs adaptações a metodologia proposta por Calvillo-Aguilar et al. (2023) para avaliar a compatibilidade e sinergismo da inoculação de três tipos de bioinsumos comerciais: (1) Bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum*; (2) bactérias solubilizadoras e mineralizadoras de fósforo do gênero *Bacillus* e (3) fungos micorrízicos arbusculares do gênero *Rhizoglomus* em milho.

2. Referencial Teórico

No Brasil, para a cultura do milho são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) 97 bioinsumos classificados como inoculantes os quais são formulados com diferentes microrganismos, sendo os principais gêneros: *Azospirillum, Pantoea, Bacillus, Brazyrhizobium, Pseudomonas, Lysinibacillus, Lactobacillus, Rhodopseudomonas, Methylobacterium, Sacharomyces, Rhizoglomus, Entrophospora* (esses dois ultimos são Fungos Micorrízicos Arbusculares). Para o controle de pragas e doenças, fungicidas microbiológicos, nematicidas e ativadores de plantas, este número passa de 600 produtos registrados e os principais microrganismos utilizados são dos gêneros: *Bacillus, Brevibacillus, Pseudomonas, Beauveria, Metarhizium, Trichoderma, Clonostachys, Paecilomyces, Pochonia, Purpureocillium, Isaria*, entre outros (fonte - MAPA

2025 – app Bioinsumos).

Metodologias e publicações sobre incompatibilidade entre microrganismos e agro-químicos utilizados em sementes são frequentes na literatura (Akhter et al., 2015; Duque et al., 2024), mas entre microrganismos benéficos ainda existem poucos artigos publicados. Sendo fundamental o desenvolvimento de metodologias práticas, rápidas e de baixo custo capazes de avaliar o efeito da co-inoculação de microrganismos diversos sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas. Neste sentido Calvillo-Aguilar et al. (2023) propuseram metodologia baseada em adaptações do método tradicional de teste de germinação em rolos de papel Germitest.

O método do papel germitest é uma técnica de laboratório usada para avaliar a viabilidade de sementes, colocando-as entre folhas de papel especial denominados "Germitest" (Brasil, 2009). As folhas de papel Germitest são esterelizadas, umidecidas, com quantidades específicas de água, para suprir as necessidades das sementes durante a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas. Este método proporciona um ambiente estéril e não interferente, onde as raízes crescem em uma ambiente poroso porém elas não conseguem perfurar as folhas de papel, garantindo uma avaliação confiável do potencial de germinação das sementes e do desenvolvimento radicular e da parte aérea.

3. Metodologia

Visando avaliar a compatibilidade e o sinergismo entre três diferentes bioinsumos comerciais aplicados em sementes e a sua contribuição para o desenvolvimento inicial de plântulas de milho. Nós adaptamos a metodologia proposta por Calvillo-Aguilar et al. (2023), introduzindo três modificações básicas: (1) substituição da água por solução nutritiva; e (2) vinculação dos bioinsumos, diretamente, mas sementes, seguindo a recomendação dos

fabricantes, e não no papel germitest conforme descrito na metodologia original e (3) aumento da duração do ensaio de 9 para 14 dias.

Testamos a metodologia através de um experimento fatorial completo envolvendo a combinação de três grupos de microrganismos: (A) bactérias diazotróficas promotoras do crescimento de plantas, (B) bactérias solubilizadoras e mineralizadoras de fósforo e (R) fungos micorrízicos arbusculares (FMA), todos produtos comerciais.

(A) - Combinação de duas estirpes de bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* CMS 11 e CMS 18;

(B) – Combinação de duas estirpes de bactérias do gênero *Bacillus megatetium* BRM 119 e *Bacillus subtilis* BRM 2094;

(R) – Estirpe de fungo micorrízico arbuscular *Rhizoglomus intraradices*.

O experimento foi conduzido em laboratório, e seguiu esquema fatorial 2x2x2: T0 – Testemunha (T); T1 - *Azospirillum* (A); T2 – *Bacillus* (B); T3 – *Rhizoglomus* (R); T4 - combinação A x B x R; T5 – combinação A x B; T6 – combinação A x R; e T7 – combinação B x R. Foram utilizadas 5 repetições por tratamento.

Folhas Germitest foram dispostas em uma bandeja plástica, umedecidas com solução nutritiva composta pelos sais do meio MSR (Strullu; Romand, 1986) na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco (Brasil, 2009), por aproximadamente 10 minutos.

Para o processo de inoculação, foram utilizadas sementes de milho BRS Caimbé, estas foram acondicionadas dentro de sacos plásticos e acrescentou-se o adesivo Biomafix (https://bioma.ind.br/produto/bioma-fix/). Os inóculos microbianos foram adicionados na quantidade recomendada pelo fabricante. Para o tratamento controle, foi empregado mesmo processo, sendo o inoculante substituído por igual volume de água deionizada esterilizada. Os sacos contento as sementes e os inoculantes foram homogeneizados manualmente e em seguida, as sementes foram distribuídas sobre o papel de Germitest (Figura 01), previamente umedecidos

com meio de cultura líquido MSR. A montagem foi realizada colocando 15 sementes na parte superior do papel, a base continha duas folhas e sobre as sementes foi disposto um papel umedecido com solução nutritiva (MSR) cobrindo-as, gerou-se os rolos de germinação conforme os tratamentos, seguindo o delineamento experimental (DIC) (Figura 01).

Os rolos contendo as sementes foram transferidos para béqueres com capacidade para 1 L, sendo adicionada 50 mL solução nutritiva em cada Becker. Os béqueres contendo os rolos de germinação foram dispostos dentro de sacos plásticos com filtro respirável (Sun bag, transparente, Sigma modelo B702). Os tratamentos foram distribuídos aleatoriamente no aparelho Germinador de Sementes ELETROlab regulado a 28^{o}C ± 2^{o}C, com fotoperíodo de 12 horas, durante 14 dias (Figura 01).

Ao fim dos 14 dias, foi realizada a abertura e verificação da germinação das sementes. As plântulas foram avaliadas individualmente, considerou-se germinadas, apenas as sementes que apresentaram as estruturas essenciais - sistema radicular, coleóptilo e a parte aérea (Brasil, 2009).

Figura 1 - Etapas da montagem do experimento de inoculação de bioinsumos em milho em papel Germtest.

Legenda - A) Processo de desinfestação e de enxágue das sementes do milho variedade BRS Caimbé; B) secagem das sementes dentro do fluxo laminar; C) adição do biomafix e do inóculo; D) saco com sementes inoculadas; E) Sementes dispostas sobre a folha de papel Germitest; F) rolos de germinação com os tratamentos; G) Rolos dispostos dentro do béquer e dentro da Sun Bag; H)material acondicionado dentro do aparelho germinador; I) sementes germinadas dos tratamentos inoculados (I) e controle (C), após sete dias de germinação.
Fonte: Autores.

Para a avaliação quanto ao comprimento das raízes e da parte aérea e suas respectivas matéria seca, foram realizadas leituras do comprimento

total das plântulas, da parte área e do sistema radicular em centímetros, para cada tratamento, com auxílio de uma fita métrica com escala de 100 cm. Para a avaliação da massa seca da parte aérea e das raízes, as partes foram separadas por tratamento e por repetição, acondicionadas separadamente em saco de papel Kraft e levadas à estufa com circulação de ar forçada à temperatura de 65°C, até atingirem peso constante, e depois foram pesadas em balança analítica e os resultados expressos em gramas.

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnovà, realizou-se análise de variância e teste de médias (Tukey a 5% de significância), com o auxílio do software R (R Core Team, 2024) com os pacotes "tidyverse" (Wickham et al., 2019) e "ExpDes.pt" (Ferreira, 2025).

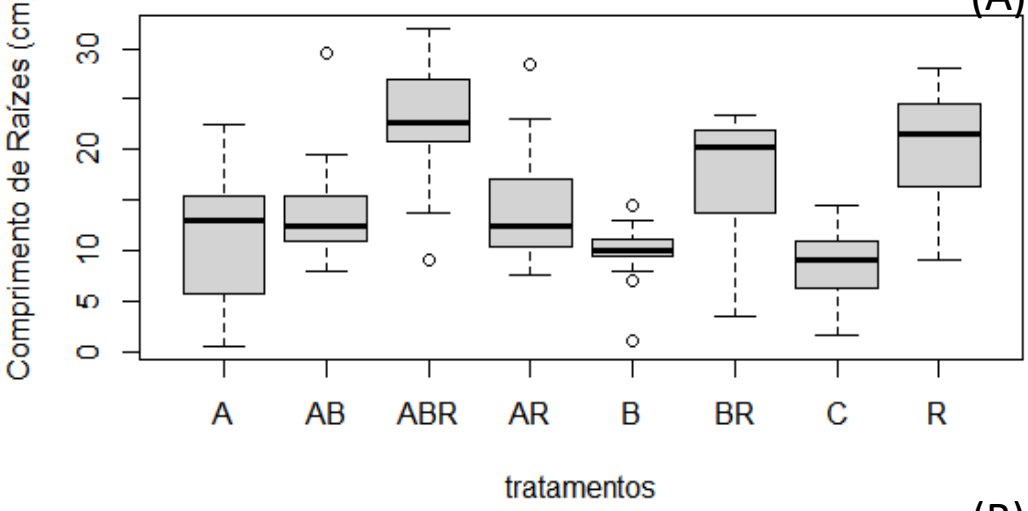
4. Resultados e Discussões

O efeito da inoculação dos três bioinsumos aplicados isolados ou combinados sobre o desenvolvimento das plantas de milho estão apresentados nas figuras 2 a 4.

Os resultados da inoculação sobre o comprimento de raízes (Figura 2 A e Tabela 1) estão apresentados por BoxPlot visando mostrar a amplitude de variação dos dados para cada tratamento. A parte B da figura - Tabela 1, apresenta o teste de média dos tratamentos e interações que apresentaram diferenças significativas. Para inoculação individual, houve resposta significativa para a inoculação com *Azospirillum* e com o FMA (Tabela 1). Sendo significativa também a interação AB e AR e a tripla ABR, a qual resultou no maior crescimento das raízes – evidenciando o efeito sinérgico da co-inoculação desses três grupos de microrganismos no desenvolvimento das raízes.

Figura 2: (A) Gráfico BOXPLOT do comprimento (cm) de raízes do milho BRS Caimbé após 14 dias da germinação em função dos tratamentos de inoculação com três bioinsumos e suas combinações: *Azospirillum* (A), *Bacillus* (B), *Rhizoglomus* (R), (AB), (AR), (BR), (ABR) e Controle não inoculado (C).
(B) Tabela 1: Médias do comprimento de raízes (cm) em função dos tratamentos e da inoculação: 0 – não inoculado; 1 - Inoculado. Médias seguidas com as mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas com a mesma cor nas colunas não se diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

(A)



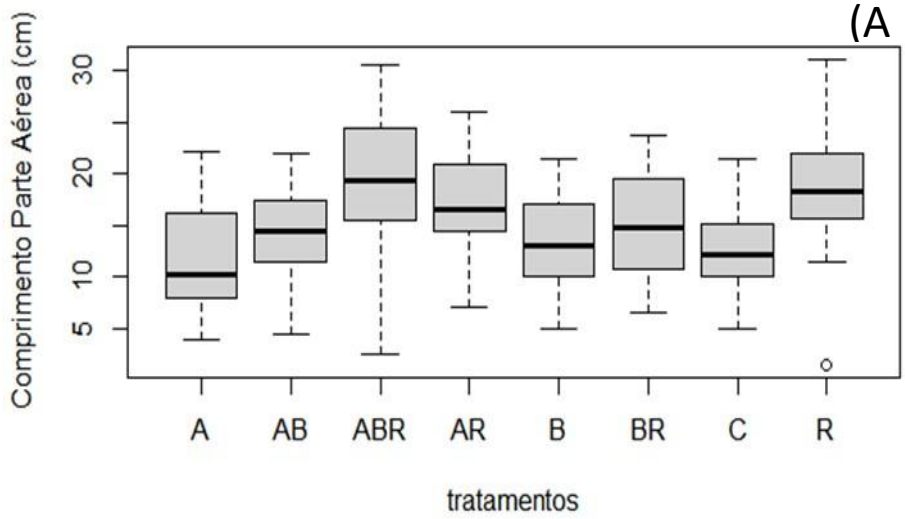
(B)

		Azospirillum	
Bacillus	*Rhizoglomus*	0	1
0	0	8,56 B **b** a	11,80 A **a**
0	1	20,31 A **a** **a**	13,94 B **a**
1	0	9,80 B a	13,62 A **b**
1	1	17,12 B **b**	23,13 A **a**

Fonte: Autores.

Figura 3: (A) Gráfico BOXPLOT do comprimento (cm) da parte aérea do milho BRS Caimbé após 14 dias da germinação em função dos tratamentos de inoculação com três bioinsumos e suas combinações: *Azospirillum* (A), *Bacillus* (B), *Rhizoglomus* (R), (AB), (AR), (BR), (ABR) e Controle não inoculado (C).
(B) Tabela 2: Resultado das interações positivas - Médias do comprimento da parte aérea (cm) em função dos tratamentos e da inoculação: 0 – não inoculado; 1 - Inoculado. Médias seguidas com as mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não se diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

(A



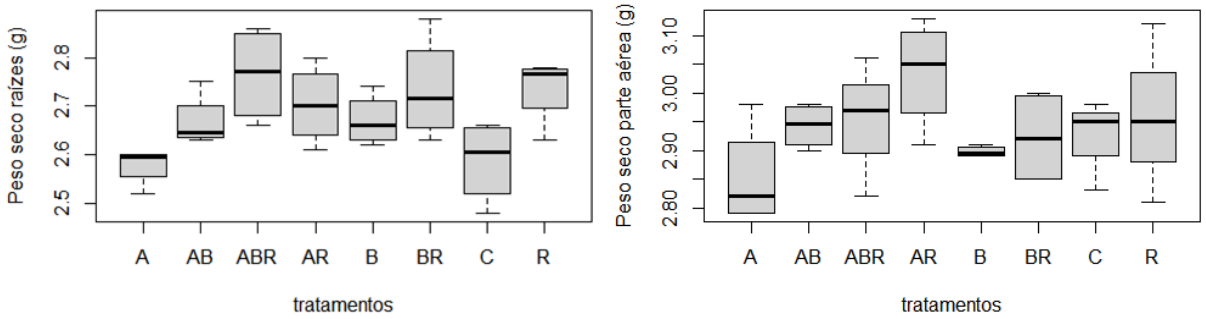
(B

	Azospirillum	
Bacillus	0	1
0	15,51 Aa	14,79 Ab
1	14,42 Ba	17,16 Aa
	Rhizoglomus	
	0	1
	13,08 B	17,85 A

Fonte: Autores.

Os resultados da inoculação sobre crescimento de parte aérea (Figura 3), demonstram que os tratamentos com melhores resultados foram inoculação combinada *Azospirillum*/*Bacillus* e o tratamento isolado com o FMA.

Figura 4 - Gráfico BOXPLOT com o peso seco de raízes e da parte aérea de milho em resposta a inoculação com *Azospirillum* (A), *Bacillus* (B), *Rhizoglomus* (R), *Azospirillum+Bacillus* (AB), *Azospirillum+Rhizoglomus* (AR), *Bacillus + Rhizoglomus* (BR), *Azospirillum+Bacillus+Rhizoglomus* (ABR) e Controle não inoculado (C).



Fonte: Autores.

Para a variável peso seco de raízes houve resposta significativa somente das inoculações individuais com o FMA (Inoculado = 4,42 e Controle = 3,86g) e com os *Bacillus* (Inoculado = 2,71g e Controle = 2,65g) (Figura 4). Para a variável peso seco da parte aérea só houve resposta significativa para a inoculação isolada do FMA (Inoculado = 2,97g e Controle = 2,91g)

Houve interação entre os tratamentos para as variáveis comprimento de raízes e da parte aérea, e da inoculação isolada para as variávies peso de raízes e da parte aérea. Esses resultados demonstram que há compatibilidade entre os bioinsumos utilizados e que a metodologia utilizada é promissora para avaliação da inoculação individual ou co-inoculação em sementes de milho. Não foram encontradas na literatura trabalhos envolvendo inoculações triplas, com produtos comerciais, tais quais, as testadas neste trabalho. Porém, nossos resultados mostram que a interação tripla é viável (Figura 2). Silva & Reis (2021) testaram a inoculação entre *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* e os resultados foram positivos tanto para parâmetros agronômicos e ganho econômico, mostrando que além de ser uma combinação interessante para as plantas, é também rentável para o produtor, uma vez que N e P são insumos caros.

Os efeitos positivos do *Azospirillum* sobre o crescimento vegetal são bem conhecidos (Barbosa et al., 2022; Cassán et al., 2020; Cruz-Hernández

et al., 2022), uma vez que ele produz substancias precursoras de fitormônios de crescimento, tanto sobre crescimento radicular e crescimento de parte aérea e a FBN.

Para *Azospirillum* essa metodologia foi utilizada com sucesso para avaliar a resposta de 13 estirpes diferentes sobre o desenvolvimento inicial de plântulas de milho, sendo possível diferenciar a performance das estirpes sobre a taxa de germinação e o desenvolvimento das plântulas (Moreira, 2024).

O teste de germinação de sementes utilizando o método do papel Germitest, no qual, as sementes são colocando-as entre folhas de papel "germitest" umedecias com água, permite que as sementes germinem e cresçam em condições controladas (Brasil, 2009). Esse método proporciona um ambiente ideal para germinação de sementes. As folhas de papel por serem porosas permitem ao mesmo tempo a hidratação das sementes por capilaridade e a troca de ar, fundamentais para a boa germinação e o desenvolvimento das plântulas.

Por outro lado, no solo a radícula emergente, busca por nutrientes e a presença desses é fundamental para modular a resposta a interação com diversos microrganismos rizosféricos, em especial com as simbioses com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e a fixação biológica de Nitrogênio (FBN) por bactérias (FBN) (Smith; Read, 2008; Masson-Boivin; Sachs 2018). O excesso ou a falta de fósforo inibe a simbiose micorrízica arbuscular e a FBN é inibida pelo excesso de N mineral (Smith; Read, 2008; Masson-Boivin; Sachs 2018). Neste estudo, utilizamos uma solução nutritiva que apresenta baixa concentração de P, favorecendo a simbiose com FMA. Recomendamos que a solução seja ajustada para diferentes cenários, por exemplo, para os *Bacillus* com capacidade de solubilizar e/ou mineralizar fósforo a utilização de uma fonte de P orgânica como fitatos e ou P ligado a óxidos e hidróxidos de Fe e Al dever ser utilizada, bem com o P ligado a Ca, respectivamente em ambiente ácido ou neutro a alcalino (dados não publicados). O *Azospirillum*,

normalmente é utilizado em milho em combinação com adubação nitrogenada e essa bactéria contribuí com promoção do crescimento e desenvolvimento radicular além da FBN (Barbosa et al., 2022; Cassán et al., 2020).

O experimento em papel Germitest se mostrou eficiente para avaliar a compatibilidade entre os três tipos de bioinsumos testados. Porém o sistema ainda precisa ser aperfeiçoado para dar melhor condição para expressão das funções dos diferentes microrganismos envolvidos. Em experimento com solução nutritiva ajustada para o desenvolvimento da simbiose micorrízica o resultado foi melhor para este grupo de microrganismos– outras melhorias no sistema podem ajudar a melhor "mimetizar" as condições de um ambiente natural.

O experimento em papel germitest se mostrou eficiente para avaliar a compatibilidade entre os três tipos de bioinsumos testados. Porém o sistema ainda precisa ser aperfeiçoado para dar melhor condição para expressão das funções dos diferentes microrganismos envolvidos. Em experimento com solução nutritiva ajustada para o desenvolvimento da simbiose micorrízica o resultado foi melhor – outras melhorias no sistema podem ajudar a melhor "mimetizar" as condições de um ambiente natural.

5. Conclusão

A metodologia do papel germiteste se mostrou viável para avaliar a compatibilidade entre bioinsumos comerciais durante as fases de germinação e desenvolvimento de plântula de milho.

Em condições de laboratório - a inoculação das sementes de milho com bioinsumos comerciais compostos por estirpes de *Azospirillum*, *Bacillus* e *Rhizoglomus* apresentou-se viável, uma vez que comparados com a inoculação individual e na testemunha os resultados obtidos a combinação dos microrganismos para o crescimento de raízes foi superior.

A inoculação isolada dos microrganismos se mostrou viável, principalmente para o FMA. Porém a atuação das bactérias solubilizadoras e mineralizadoras de fósforo (*Bacillus*) não pode ser avaliada pois na solução nutritiva utilizada não havia fontes de P para serem solubilizadas ou mineralizadas.

Agradecimentos

Ao CNPq e FAPEMIG pela conceção de bolsas a primeira autora durante as fases de desenvolvimento deste estudo. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) pelo financiamento da pesquisa – projeto SEG 20.20.03.027.00.00 Sistema de produção de milho orgânico na região Central de Minas Gerais.

Referências

AKHTER, W.; BHUIYAN, M. K. A.; SULTANA, F.; HOSSAIN, M. M. Integrated effect of microbial antagonist, organic amendment and fungicide in controlling seedling mortality (Rhizoctonia solani) and improving yield in pea (Pisum sativum L.). **Comptes Rendus - Biologies**, v. 338, n. 1, p. 21–28, 2015. Academie des sciences. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.crvi.2014.10.003>.

BARBOSA, J. Z.; ROBERTO, L. DE A.; HUNGRIA, M.; et al. Meta-analysis of maize responses to Azospirillum brasilense inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. **Applied Soil Ecology**, v. 170, n. May 2021, 2022.

CALVILLO-AGUILAR, F. F.; CRUZ-CÁRDENAS, C. I.; CHÁVEZ-DÍAZ, I. F.; et al. Germination test for the evaluation of plant-growth promoting microorganisms. **Journal of Microbiological Methods**, v. 207, n. January, 2023.

CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G.; et al. Everything you must know about Azospirillum and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, n. 4, p. 461–479, 2020.

CRUZ-HERNÁNDEZ, M. A.; MENDOZA-HERRERA, A.; BOCANEGRA-GARCÍA, V.; RIVERA, G. Azospirillum spp. from Plant Growth-Promoting Bacteria to Their Use in Bioremediation. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 1–13, 2022.

DUQUE, T.S.; PINHEIRO, R. A.; SOUZA, I.M.; SILVA, G.G,; SOARES, M.A.; SANTOS, J. B. SANTOS. Herbicides and bio-inputs: Compatibility and challenges for sustainable agriculture, **Chemosphere**, v. 369, 2024, 143878, ISSN 0045-6535, https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143878.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Português). **R package** version 1.2.2. 2021.

MASSON-BOIVIN, C.; SACHS, J. L. Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia — the roots of a success story. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 44, p. 7–15, 2018. Elsevier Ltd. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.12.001>. .

R Core Team (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.R-project.org/.

SMITH, S. E.; READ, D. Mycorrhizal Symbiosis. In: S. E. Smith; D. B. T.-M. S. (Third E. Read (Orgs.); Mycorrhizal Symbiosis. p.800, 2008. London: Academic Press.

STRULLU, D.G.; ROMAND, C. Méthode d'obtention d'endo-mycorhizes à vésicules et arbuscules en conditions axéniques. **C.R. Acad. Sci.** Ser. III Sci. Vie, 303: 245–250, 1986.

VERMELHO, A. B.; MACRAE, A.; JUNIOR, A. N.; et al. Microbial bioinputs in Brazilian agriculture. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 12, 2025.

WICKHAM H, AVERICK M, BRYAN J, CHANG W, MCGOWAN LD, FRANÇOIS R, GROLEMUND G, HAYES A, HENRY L, HESTER J, KUHN M, PEDERSEN TL, MILLER E, BACHE SM, MÜLLER K, OOMS J, ROBINSON D, SEIDEL DP, SPINU V, TAKAHASHI K, VAUGHAN D, WILKE C, WOO K, YUTANI H. "Welcome to the tidyverse." **Journal of Open Source Software**, 4(43), 1686, 2019. doi:10.21105/joss.01686.