

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E EVOLUÇÃO

Isolamento e caracterização de bactérias rizosféricas de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) e seus efeitos na promoção de crescimento nas culturas da soja e do algodão

Marilia Thomé Nadalini

São Carlos

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E EVOLUÇÃO

Marilia Thomé Nadalini

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Bacharelado em  
Biotecnologia da Universidade Federal de  
São Carlos como pré-requisito à obtenção  
do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Dr. Ronaldo José Durigan Dalio

Co-orientador: Prof. Dr. Anderson F. Cunha

São Carlos

2023

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Dr. Ronaldo José Durigan Dalio, pela oportunidade e confiança no meu trabalho;

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Anderson Ferreira da Cunha, pelos ensinamentos, não apenas acadêmicos e por todo o suporte durante esses anos de graduação;

À Ideelab, que me proporcionou evolução profissional e também pessoal;

Ao Laboratório de Bioquímica e Genética Aplicada, que além de aprendizados científicos, me proporcionou grandes amigos;

Ao meu companheiro de laboratório Lucas Smith Pimenta, pelos ensinamentos, sem os quais este trabalho não seria possível;

À minha mãe Maria Aparecida Thomé, pelo apoio incondicional e por nunca medir esforços para que eu realizasse meus sonhos;

À minha avó Nair Zanotti Thomé, presente em espírito, pelos cuidados a mim dedicados e pelos ensinamentos, os quais guardo sempre comigo;

Ao meu namorado Eros, pela paciência, amor, companheirismo e incentivos diários;

À toda a minha família, por estarem sempre ao meu lado e acreditarem em mim;

Aos meus amigos que me acompanharam durante essa trajetória e a tornaram mais leve.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Cagaiteira ( <i>Eugenia dysenterica</i> ).....	2
2.2. Cultura da soja.....	4
2.3. Cultura do algodão.....	5
2.4. Microrganismos promotores de crescimento e seu potencial no mercado agrícola.....	6
2.4.1. Microrganismos fixadores de nitrogênio.....	7
2.4.2. Microrganismos solubilizadores de fosfatos.....	8
2.4.3. Microrganismos solubilizadores de potássio.....	9
2.4.4. Produção de sideróforos por microrganismos.....	10
2.4.5. Produção de biofilme por microrganismos.....	11
3. OBJETIVO.....	12
3.1. Objetivos específicos:.....	12
4. METODOLOGIA.....	12
4.1. Coleta da amostra de solo rizosférico.....	12
4.2. Isolamento das bactérias.....	13
4.3. Testes qualitativos <i>in vitro</i> .....	13
4.3.1. Avaliação da capacidade de fixação de N <sub>2</sub> .....	13
4.3.2. Solubilização de fosfato inorgânico e potássio.....	14
4.3.3. Verificação da produção de sideróforos.....	14
4.3.4. Produção de biofilme.....	15

<b>4.4. Testes em casa de vegetação</b> .....	15
<b>4.4.1. Semeadura</b> .....	16
<b>4.4.2. Inoculação dos microrganismos em soja</b> .....	16
<b>4.4.3. Inoculação dos microrganismos em algodão</b> .....	17
<b>4.5. Parâmetros avaliados</b> .....	18
<b>4.5.1. Altura</b> .....	18
<b>4.5.2. Determinação do número e massa das vagens</b> .....	18
<b>4.5.3. Determinação da massa fresca aérea</b> .....	19
<b>4.5.4. Determinação da massa seca aérea e das raízes</b> .....	19
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	19
<b>5.1. Testes qualitativos <i>in vitro</i></b> .....	19
<b>5.1.1. Capacidade de fixação de N<sub>2</sub></b> .....	19
<b>5.1.2. Ensaio de solubilização de fosfato</b> .....	20
<b>5.1.3. Ensaio de solubilização de potássio</b> .....	21
<b>5.1.4. Ensaio de produção de sideróforos</b> .....	22
<b>5.1.5. Ensaio de produção de biofilme</b> .....	23
<b>5.2. Avaliação dos parâmetros biométricos</b> .....	24
<b>5.2.1. Avaliação das plantas de soja e algodão</b> .....	24
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	33
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Cagaiteira ( <i>Eugenia dysenterica</i> ). Fonte: Boas práticas e manejo para o extrativismo sustentável da cagaita. Disponível em: <a href="https://ispn.org.br/site/wp-content/uploads/2018/10/BoasPraticasCagaita.pdf">https://ispn.org.br/site/wp-content/uploads/2018/10/BoasPraticasCagaita.pdf</a> . Acesso em: 04 abr. 2023. ....	4
<b>Figura 2.</b> Local de coleta. Fonte: Google Maps. ....	12
<b>Figura 3.</b> a) Tratamento das sementes das plantas de soja. b) Aplicação foliar dos microrganismos nas plantas de soja. Fonte: A autora (2023). ....	17
<b>Figura 4.</b> Aplicações foliares realizadas nas plantas de algodão de acordo com o tratamento. Fonte: A autora (2023). ....	18
<b>Figura 5.</b> a) Teste de solubilização de fosfato inorgânico ( $\text{Ca}_3\text{HPO}_4$ ), no qual os isolados 02, 04, 06, 07 e 08 testaram positivo. b) Teste de solubilização de fosfatos naturais reativos (resultados positivos indicados por setas). Fonte: A autora (2022). ....	20
<b>Figura 6.</b> Teste de solubilização de potássio a partir da glauconita, com resultado positivo para os isolados 02, 04 e 06. Fonte: A autora (2022). ....	22
<b>Figura 7.</b> Teste de produção de sideróforos pelos isolados selecionados. A formação dos halos alaranjados ao redor dos isolados 02, 04, 06, 07 e 08 indica resultado positivo. Fonte: A autora (2022). ....	23
<b>Figura 8.</b> Teste para a produção de biofilme pelos isolados em meio contendo o corante vermelho Congo. Os isolados 02, 04 e 06 foram considerados formadores de biofilme. Fonte: A autora (2022). ....	23
<b>Figura 9.</b> Plantas de soja dos diferentes tratamentos. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022). ....	24
<b>Figura 10.</b> Plantas de algodão dos diferentes tratamentos. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022). ....	25
<b>Figura 11.</b> Alturas médias das plantas de soja por tratamento. Fonte: A autora (2022). ....	25
<b>Figura 12.</b> Alturas médias das plantas de algodão por tratamento. Fonte: A autora (2022). ....	26
<b>Figura 13.</b> Médias das massas frescas aéreas das plantas de soja por tratamento. Fonte: A autora (2022). ....	27

<b>Figura 14.</b> Médias das massas frescas aéreas das plantas de algodão por tratamento. Fonte: A autora (2022). .....	27
<b>Figura 15.</b> Médias das massas secas aéreas das plantas de soja por tratamento. Fonte: A autora (2022). .....	28
<b>Figura 16.</b> Médias das massas secas aéreas das plantas de algodão por tratamento. Fonte: A autora (2022). .....	29
<b>Figura 17.</b> Raízes das plantas de soja dispostas por tratamento. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022). .....	30
<b>Figura 18.</b> Raízes das plantas de algodão dispostas por tratamento. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022). .....	30
<b>Figura 19.</b> Médias das massas secas radiculares das plantas de soja por tratamento. Fonte: A autora (2022). .....	31
<b>Figura 20.</b> Médias das massas secas radiculares das plantas de algodão por tratamento. Fonte: A autora (2022). .....	31
<b>Figura 21.</b> Médias do número de vagens de acordo com o tratamento. Fonte: A autora (2022). .....	32
<b>Figura 22.</b> Vagens dispostas de acordo com o tratamento. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022). .....	32
<b>Figura 23.</b> Médias das massas das vagens de acordo com o tratamento. Fonte: A autora (2022). .....	33

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Teste para verificação da capacidade de fixação de N <sub>2</sub> pelos microrganismos isolados. ....	19
--	----

## RESUMO

O Brasil ocupa uma posição de destaque no cenário agrícola global, sendo o maior produtor mundial de soja, principal cultura do agronegócio brasileiro, e quarto maior produtor mundial de algodão. Contudo, a presença de solos ácidos e de baixa fertilidade somada à busca pelo aumento da produtividade fazem do Brasil o maior consumidor de fertilizantes, o que encarece a produção e gera impactos ambientais. Neste contexto, o uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal é um importante aliado na agricultura, auxiliando na mobilização e transporte de nutrientes para a planta e também na tolerância a fatores bióticos e abióticos. Este trabalho buscou verificar a existência de bactérias promotoras de crescimento vegetal entre os isolados da rizosfera de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*), espécie nativa do cerrado, encontrada em regiões de solos ácidos e pobres em nutrientes, já utilizada para a bioprospecção de microrganismos de interesse biotecnológico. Os isolados que apresentaram rápido crescimento foram submetidos a teste *in vitro* para verificar a capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>), de solubilização de fosfato e potássio e de produção de sideróforos e biofilme. Com base nas análises *in vitro*, as bactérias 02, 04 e 06 foram selecionadas para os testes em casa de vegetação nas culturas de soja e algodão. Os parâmetros biométricos altura, massa fresca aérea, massa seca aérea, massa seca radicular, número e massa das vagens para as plantas de soja foram avaliados ao final do experimento *in vivo*. O isolado 02 promoveu um aumento de 35,63% na massa seca radicular das plantas de algodão, enquanto aquelas inoculadas com o isolado 06 obtiveram um aumento de 32,73%. As plantas de soja inoculadas com as bactérias 02 e 04 apresentaram um aumento de 13,33% e 11,67%, respectivamente, em seu número de vagens. Os demais parâmetros avaliados não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos. A partir dos resultados obtidos, nota-se a interação entre planta e microrganismos varia de acordo com a espécie vegetal e, ainda, que os efeitos positivos observados podem estar correlacionados à capacidade desses microrganismos de fixar N<sub>2</sub>, de solubilizar fosfato e potássio e de produzir biofilme e sideróforos.

**Palavras-chave:** soja; algodão; cagaiteira; microrganismos promotores de crescimento de plantas



## ABSTRACT

Brazil occupies a prominent position in the global agricultural scenario, being the world's largest producer of soy, the main crop of Brazilian agribusiness, and the world's fourth largest producer of cotton. However, the presence of acidic and low fertility soils, combined with the quest to increase productivity, make Brazil the largest consumer of fertilizers, which increases production costs and generates environmental impacts. In this context, the use of microorganisms that promote plant growth is an important ally in agriculture, helping to mobilize and transport nutrients to the plant and also to tolerate biotic and abiotic factors. This work aims to verify the existence of bacteria that promote plant growth among isolates from the rhizosphere of cagaiteira (*Eugenia dysenterica*), a specie native of the savannah, found in regions with acidic soils and poor in nutrients, already used for bioprospecting microorganisms of biotechnological interest. The isolates that showed fast growth were submitted to an *in vitro* test to verify their ability to fix atmospheric nitrogen (N<sub>2</sub>), solubilize phosphate and potassium, and produce siderophores and biofilm. Based on *in vitro* analyses, bacteria 02, 04 and 06 were selected for tests in a greenhouse on soy and cotton crops. The biometric parameters height, aerial fresh mass, aerial dry mass, root dry mass, number and mass of pods for soy plants were evaluated at the end of the *in vivo* experiment. Isolate 02 promoted an increase of 35.63% in the root dry mass of cotton plants, while those inoculated with isolate 06 obtained an increase of 32.73%. Soy plants inoculated with bacteria 02 and 04 showed an increase of 13.33% and 11.67%, respectively, in the number of pods. The other evaluated parameters did not show statistically significant difference between treatments. From the results obtained, it can be seen that the interaction between plant and microorganisms varies according to the plant species and, furthermore, that the positive effects observed may be correlated to the ability of these microorganisms to fix N<sub>2</sub>, to solubilize phosphate and potassium and to produce biofilm and siderophores.

**Keywords:** soy; cotton; cagaiteira; plant growth promoting microorganisms

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o país com maior possibilidade de aumentar sua produtividade agrícola do globo, com a capacidade de tornar-se o maior produtor de grãos nos próximos anos, superando os Estados Unidos (CONTINI; ARAGÃO, 2020 apud OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022). No ano de 2020, o país alimentou aproximadamente 800 milhões de pessoas e, no que tange à taxa de produção de grãos no período de 2011 a 2020, apresentou um crescimento de 5,33% ao ano, o que representa mais que o dobro da taxa mundial, a qual apresentou um valor de crescimento de 2,05% ao ano (CONTINI; ARAGÃO, 2020 apud OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022).

Apesar do excelente desempenho do país no cenário agrário mundial, os sistemas de produção agrícola brasileiros são muito afetados pela presença de solos pouco férteis. Diante disso, há um intenso uso de fertilizantes químicos sintéticos, os quais geram impactos ambientais, além da dependência de importação de insumos, o que encarece sua produção (OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022). A fabricação desses insumos demanda um alto valor energético, geralmente fornecido por meio de combustíveis fósseis não renováveis. Aditado a isso, no campo, sua eficiência é reduzida devido a perdas oriundas de volatilização, imobilização ou outros processos bioquímicos (SILVA et al., 2022).

Neste contexto, o uso de fertilizantes biológicos é uma alternativa para suprir a carência de nutrientes necessários para o desenvolvimento vegetal. Entende-se por fertilizante biológico um produto que contém microrganismos vivos que exercem ação direta ou indireta sobre as plantas, promovendo efeitos benéficos por meio de diferentes mecanismos. Seu modo de ação pode ser por meio da promoção da fixação de nitrogênio atmosférico, mobilização de nutrientes, proteção contra fitopatógenos, produção de substâncias promotoras de crescimento, alívio de estresse biótico ou abiótico, entre outros (MAÇIK, GRYTA, FRAÇ, 2020).

Esses microrganismos, que associados à planta promovem seu crescimento e outros benefícios, são chamados de multifuncionais e, dentre eles, destacam-se as rizobactérias. Estas pertencem a um grupo vasto de microrganismos, de diferentes gêneros, os quais estão sob influência do sistema radicular da planta. Estes microrganismos podem ser utilizados de forma isolada (inoculação) ou combinada

(coincubação), exercendo ação positiva sobre o crescimento vegetal (SILVA et al., 2022).

Nas últimas três décadas, o uso de inoculantes capazes de solubilizar os nutrientes fósforo (P) e potássio (K) ganharam relevância no mercado mundial. No Brasil, atualmente, existem fertilizantes biológicos comercializados para a solubilização de P (BiomaPhos® (Bioma), Phòs'UP® (Tradecorp) Biofree® (Biotrop) e Pasto Max® (Biotrop)) e nenhum disponível ainda para a solubilização de K (OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022).

Para concretizar e aumentar a oferta de inoculantes no mercado brasileiro é necessário investir esforços para: identificar e caracterizar novos microrganismos eficientes na solubilização de P e K; detalhar mecanismos de ação, o que auxiliará no entendimento dos processos e na escolha de cepas; estabelecer condições ótimas para a atividade dos inoculantes, incluindo as interações entre microrganismos presentes no solo e inoculantes amplamente utilizados; aprimorar os estudos em condição de campo para o estabelecimento de doses e melhor compreensão da resposta do vegetal aos inoculantes em diferentes condições edafoclimáticas; realizar estudos com diferentes culturas, para definição de afinidade e doses, além de conduzir experimentos de campo de longa duração, visando entender como os inoculantes se comportam a longo prazo e como afetam a saúde microbiológica do solo (OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022).

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Cagaiteira (*Eugenia dysenterica*)**

A cagaiteira é uma espécie frutífera nativa do cerrado, pertencente à família *Myrtaceae*. Pode ser encontrada em quase toda a extensão do bioma, porém, é predominante nas regiões da Bahia, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Piauí, São Paulo, Tocantins (NAVES, BORGES, CHAVES, 2002).

Essa espécie vegetal ocorre em áreas de latossolo vermelho-amarelo, que são solos pobres em nutrientes. Sua distribuição é singular, concentrando-se em algumas regiões, com a formação de aglomerados, os quais facilitam a ação dos polinizadores

e, conseqüentemente, favorecem a propagação da espécie (MAZUTI SILVA *et al.*, 2015).

Trata-se de uma árvore de porte mediano, que pode atingir 10 metros de altura, com crescimento vagaroso. Possui tronco bastante sulcado, com cortiça muito presente e folhas caducas. Seu florescimento e frutificação ocorrem em plena estiagem, evidenciando sua adaptação para condições adversas (Figura 1) (NAVES, BORGES, CHAVES, 2002).

Seu fruto é do tipo baga, com casca de coloração amarelada quando jovem e esverdeada quando maduro, possui polpa suculenta, sabor ácido e pode conter até quatro sementes em seu interior. É muito utilizado como alimento, devido ao seu valor nutricional e também para fins medicinais, devido aos efeitos laxativos que possui (MAZUTI SILVA *et al.*, 2015).

Além de sua importância nas indústrias alimentícia e farmacêutica, a espécie é utilizada também para a obtenção de fungos endofíticos capazes de controlar fitopatógenos (MAZUTI SILVA *et al.*, 2015). Deste modo, tendo em vista sua relevância econômica, sua utilização para bioprospecção de microrganismos de interesse biotecnológico e sua ocorrência em áreas de solo pouco férteis e com grande biodiversidade da microbiota, característicos do cerrado, escolheu-se a cagaiteira para o isolamento de microrganismos com potencial para a promoção de crescimento vegetal.

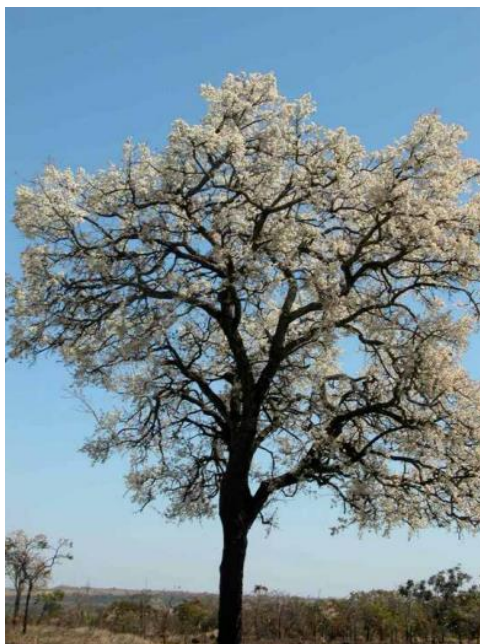


Figura 1. Cagaiteira (*Eugenia dysenterica*). Fonte: Boas práticas e manejo para o extrativismo sustentável da cagaita. Disponível em: <https://ispn.org.br/site/wp-content/uploads/2018/10/BoasPraticasCagaita.pdf>. Acesso em: 04 abr. 2023.

## 2.2. Cultura da soja

A soja é um vegetal herbáceo pertencente ao gênero *Glycine* L, espécie *max*. As principais variedades utilizadas comercialmente possuem o caule hispido, pouco ramificado e raiz com presença de eixo principal e muitas ramificações. Seu primeiro par de folhas é simples, enquanto as demais são trifolioladas. Suas flores são típicas da subfamília a qual pertencem, *Papilionoideae*, de fecundação autógama, com coloração branca, roxa ou intermediária. Apresentam vagens ao longo do seu ciclo de vida, as quais podem conter de uma a cinco sementes em seu interior. Sua estatura varia de acordo com as condições ambientais e com o cultivar, mas, idealmente, está entre 60 a 110 cm. Trata-se de uma cultura cuja floração responde ao nictoperíodo, ou seja, a soja é uma planta de dias curtos, que sob influência de dias longos atrasa sua floração. Contudo, é possível o plantio da oleaginosa em baixas latitudes, graças aos investimentos em pesquisa que levaram à tropicalização da soja (NEPOMUCENO, FARIAS, NEUMAIER, 2021).

Além de ser a principal cultura do agronegócio brasileiro, a soja teve um papel fundamental na mudança geográfica da produção agrícola no Brasil. Os primeiros relatos do seu plantio no país datam de meados de 1880, quando os primeiros testes

foram realizados na Bahia, posteriormente, expandiu-se para as regiões sudeste, sul e só depois chegou ao centro-oeste. O início da sua produção em escala comercial iniciou-se no Rio Grande do Sul. Sua ascensão foi tão significativa que a produção passou de 78 mil toneladas colhidas em 1952 para 114 milhões de toneladas em 2017, colocando o Brasil na disputa com os Estados Unidos pelo título de maior produtor mundial. Além disso, a soja e sua expansão influenciam diretamente outras importantes culturas, como, por exemplo, a do milho, que teve seu período de plantio alterado, devido à ocupação das áreas pela soja, surgindo, assim, o milho safrinha (MIRANDA, 2020).

O Mato Grosso ultrapassou a produção de soja pelos estados tradicionais, Rio Grande do Sul e Paraná, somente na safra de 1999/ 2000 e, desde então, a produção do grão pela região Centro-Oeste tem um papel de suma importância na agricultura brasileira. Houveram muitos esforços em pesquisa e alto emprego de tecnologia para tornar viável seu cultivo nos solos ácidos e pouco férteis do cerrado (MIRANDA, 2020).

### **2.3. Cultura do algodão**

Algodoeiro é o nome dado a uma variedade de plantas eudicotiledôneas pertencentes ao gênero *Gossypium*, da família *Malvaceae* (MELO, 2017). Tratam-se de vegetais arbustivos lenhosos, nativos de regiões tropicais e subtropicais, com espécies de grande interesse econômico, devido a sua utilização para a produção da fibra têxtil conhecida como algodão. O plantio é realizado nos meses de dezembro e janeiro, sendo que o clima quente e elevadas luminosidade e umidade do solo favorecem seu desenvolvimento. Seu ciclo de vida pode durar de 120 a 150 dias (EMBRAPA, 2022).

O histórico da cadeia produtiva dessa cultura é um dos mais dinâmicos, no qual podem ser identificados três ciclos distintos. O primeiro ciclo estende-se do século XVIII até o final da década de 1980, onde há uma produção extensiva de algodão arbóreo, uma espécie de cultivo permanente, no semiárido nordestino. O segundo ciclo inicia-se no final da década de 1980 e se estende até os anos 1990, se caracterizando pela produção de algodão herbáceo, de cultivo anual e temporário, nos estados de São Paulo e Paraná. É um ciclo marcado pelo uso de mão-de-obra familiar, baixo nível de mecanização e de insumos químicos. Neste momento, percebe-se que a produção do algodão arbóreo diminuiu significativamente (ALCANTARA, VEDANA, VIEIRA FILHO, 2021).

O terceiro ciclo, por sua vez, iniciou-se em meados da década de 1990 e perdura até os dias de hoje, caracterizando-se pelo intenso uso da mecanização, da semeadura até a colheita, e de insumos químicos. Enquanto a produção de algodão arbóreo tornou-se residual, o Brasil ganhou destaque pela produção de algodão herbáceo no mercado internacional, o qual é cultivado em associação com soja e milho. Atualmente, o país ocupa a posição de quarto maior produtor mundial, atrás de China, Índia e Estados Unidos e encontra-se entre os maiores exportadores. No ano de 2019, o Brasil foi responsável pela produção de aproximadamente 6,9 milhões de toneladas de algodão e apresentou um cenário interno bastante promissor, dado que o consumo nacional de plumas de algodão é um dos maiores do mundo (ALCANTARA, VEDANA, VIEIRA FILHO, 2021; ABRAPA, 2022).

Com a tendência do aumento do consumo de materiais naturais e biodegradáveis, em detrimento dos sintéticos, característica da era da bioeconomia, a cotonicultura é favorecida, tendo em vista o aumento da demanda por fibras naturais. Neste cenário, o Brasil tem grande potencial para continuar alavancando a produção e exportação do algodão, pois possui terras e tecnologias suficientes para acompanhar o aumento da demanda mundial por fibras (SEVERINO et al., 2019).

De acordo com o terceiro levantamento da safra 2022/ 2023, muitos produtores intencionam ampliar a área destinada para essa cultura, dada a desaceleração da produção em decorrência da guerra na Europa, inflação global e desaceleração econômica vivenciada nos últimos meses. Assim, os produtores têm investido na melhoria da qualidade do algodão e na divulgação do produto brasileiro para potenciais consumidores. Em comparação à safra 2021/ 2022, houve um crescimento de 16,6% e a produção da pluma deverá atingir 2,97 milhões de toneladas, como consequência do aumento da área cultivada (estimado em 2,3%, totalizando 1.638 mil hectares) e do ganho de produtividade (CONAB, 2022).

#### **2.4. Microrganismos promotores de crescimento e seu potencial no mercado agrícola**

Microrganismos, como bactérias e fungos, são capazes de executar diversas funções, entre elas de interagir com as plantas, podendo colonizar os seus tecidos internos, a superfície de suas folhas (filosfera) e os três compartimentos da raiz (rizosfera, rizoplano e endosfera). A relação estabelecida entre a planta hospedeira e o microrganismo pode ser benéfica para ambos ou prejudicial, quando o

microrganismo interfere negativamente em seu crescimento, podendo levá-la à morte (GOMES et al., 2016).

Os microrganismos diferem-se em grupos de acordo com a relação que estabelecem com a planta. São chamados de endofíticos aqueles que colonizam o interior de tecidos vegetais, enquanto aqueles que colonizam apenas a superfície de algum órgão ou tecido vegetal são chamados de epifíticos. Tanto endofíticos quanto epifíticos não causam nenhum dano ao seu hospedeiro, diferindo-se de outro grupo, os fitopatogênicos, capazes de causar danos (AZEVEDO, 1998).

Muitos microrganismos são capazes de atuar na promoção do crescimento vegetal de diferentes formas. Assim, podem ter papel na mobilização e no transporte de nutrientes para a planta, na fixação de nitrogênio atmosférico, na solubilização de fósforo, no aumento da área de absorção das raízes e na produção de fito-hormônios ou compostos orgânicos voláteis, os quais atuam no desenvolvimento e na proteção do hospedeiro contra fito-patógenos. Ainda, podem auxiliar na tolerância a fatores abióticos, como a seca ou a elevada salinidade do solo (GOMES et al., 2016).

Os microrganismos promotores de crescimento possuem algumas características que os permitem colonizar os tecidos vegetais e a rizosfera, como motilidade, quimiotaxia, aderência e resistência a estresses. Após a colonização, a planta irá lhes conferir, além de proteção, carbono, aminoácidos e metabólitos secundários, como flavonoides, que influenciam na atividade microbiana (GOMES et al., 2016).

#### **2.4.1. Microrganismos fixadores de nitrogênio**

O nitrogênio (N) é o macronutriente requerido em maior quantidade pela planta, sendo necessário para a síntese de ácidos nucleicos, enzimas e proteínas. Sua deficiência tem efeito negativo sob o crescimento vegetal, tornando suas folhas amareladas e reduzindo a ramificação em leguminosas. Porém, a planta não é capaz absorver o nitrogênio na forma que ele se encontra na atmosfera ( $N_2$ ), apenas nas formas de amônio  $N-NH_4^+$  e nitratos  $N-NO_3^-$ , que são absorvidos pelas suas raízes (HAKIM et al., 2021).

Na forma de amônio, o nitrogênio é diretamente assimilado em aminoácidos e atua no estímulo da ramificação das raízes, aumentando a superfície de absorção de



nutrientes. Desse modo, há um aumento de aminoácidos livres, do teor de clorofila, açúcar e amido. Já o nitrogênio na forma de nitrato, antes de ser utilizado pela planta, precisa ser convertido em amônio. O nitrato age na melhora da absorção de nutrientes por meio da alongação da raiz, além de possuir efeito direto nas vias de sinalização do vegetal (HAKIM et al., 2021).

O nitrogênio pode ser disponibilizado para o vegetal por meio do uso de fertilizantes nitrogenados, resultantes de processos industriais onerosos, ou por meio da fixação biológica, realizada por microrganismos presentes no solo. A fixação biológica pode ser realizada por dois tipos de bactérias, as simbióticas e não-simbióticas. As bactérias simbióticas colonizam as raízes de leguminosas, levando à formação de nódulos radiculares e incluem as bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Ensifer*, *Azorhizobium* e *Mesorhizobium*. Já as bactérias não-simbióticas são fixadoras de nitrogênio de vida livre, e englobam microrganismos dos gêneros *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Mitsuaria* e *Pseudomonas* (HAKIM et al., 2021).

#### **2.4.2. Microrganismos solubilizadores de fosfatos**

O fósforo (P) é o segundo macronutriente demandado pelas plantas, estando envolvido na maioria de seus processos fisiológicos e bioquímicos, incluindo divisão celular, fotossíntese, respiração, desenvolvimento do sistema radicular e na síntese de biomoléculas. O P está presente nas moléculas de ácidos nucleicos, nos fosfolipídios e constitui a molécula de adenosina trifosfato (ATP), envolvida com o armazenamento e transferência de energia. Sua deficiência gera sintomas como crescimento reduzido, baixa produtividade, além de clorose, condição na qual a folha perde sua coloração verde característica, tornando-se verde claro ou amarelada (HAKIM et al., 2021).

A grande maioria dos solos agricultáveis no Brasil são ácidos, contendo o P imobilizado em formas insolúveis, com predomínio de fosfatos de cálcio, ferro e alumínio ou adsorvido a argilominerais, o que reduz a quantidade de fósforo disponível para o uso do vegetal. Para solucionar o problema são utilizados fertilizantes fosfatados, elevando os custos da produção e diminuindo a sustentabilidade do agronegócio brasileiro, afetando, assim, sua competitividade. Ainda, estima-se que

70% do P contido nos fertilizantes minerais ou orgânicos permanece acumulado no solo, em formas pouco acessíveis à planta (BATISTA et al., 2018; OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022).

Assim, bactérias rizosféricas são uma alternativa ao uso de fertilizantes químicos, pois são capazes de solubilizar fosfatos inorgânicos presentes no solo e torná-los disponíveis para serem absorvidos pela planta. As bactérias com capacidade de solubilizar fosfatos podem fazê-lo por meio de diversos mecanismos, tais como processos de acidificação, quelação e reações de troca ou por meio da liberação de metabólitos secundários, como ácidos orgânicos, que podem converter formas pouco solúveis de fosfato em formas solúveis (BATISTA et al., 2018).

#### **2.4.3. Microrganismos solubilizadores de potássio**

De acordo com a sua disponibilidade para a planta, o potássio (K) pode ser dividido em quatro grupos. O primeiro é do K solúvel em água, encontrado na solução do solo (fase líquida do solo, com íons dissolvidos, onde a maioria das reações químicas do ocorrem), nesta condição, o macronutriente está disponível para ser utilizado prontamente pelas plantas e microrganismos, estando também sujeito à lixiviação. O segundo grupo corresponde ao K-trocável, ou seja, o K adsorvido na superfície dos argilominerais e da matéria orgânica do solo. Tanto o primeiro quanto o segundo grupo correspondem a uma parcela muito pequena do potássio total do solo, podendo chegar a 0,2% no primeiro grupo e a 2% no segundo. Os terceiro e quarto grupos contêm, respectivamente, o K-não trocável e o K-estrutural, em ambos o potássio está lentamente disponível ou não disponível para ser utilizado pelo vegetal de imediato (OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022; PÉREZ; RIGO; MARQUES, 2015).

Na planta, a principal função bioquímica do K é a ativação enzimática, de modo que o macronutriente desempenha um papel fundamental na ativação de mais de 50 enzimas. Altas concentrações de potássio são necessárias para causar mudanças conformacionais e máxima ativação enzimática. O elemento pode ser encontrado em maior quantidade no citoplasma e nos cloroplastos de células vegetais e, além da função mencionada, está também envolvido com a regulação osmótica da planta e com a absorção iônica (FAQUIN, 2005).

Devido ao seu papel no metabolismo de carboidratos, em casos de deficiência de potássio, a planta pode apresentar acúmulo de carboidratos solúveis e diminuição dos níveis de amido. Além disso, o potássio atua na síntese de compostos nitrogenados e, conseqüentemente, níveis do elemento abaixo do normal ocasionam acúmulo de compostos nitrogenados solúveis, como aminoácidos, amidas e nitrato. Em vegetais nestas condições, observa-se clorose nas folhas, seguida de necrose das pontas e margens (FAQUIN, 2005).

Atualmente, devido à insuficiência de jazidas tradicionais de K em território nacional e sua dissolução lenta e complexa nas rotas de obtenção alternativas para a fabricação de fertilizantes, a biossolubilização está se tornando uma ótima opção. Algumas espécies de fungos e bactérias conseguem solubilizar o potássio e liberá-lo das rochas silicáticas, tornando-o disponível para o vegetal. Esses microrganismos são encontrados em maior número da região da rizosfera, devido à influência dos exsudatos radiculares (OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022).

A produção de ácidos orgânicos (como ácido acético, glicólico, malônico, láctico e propiônico) e de ácidos orgânicos fortes (como ácido oxálico, tartárico e cítrico) são os principais mecanismos de solubilização de potássio utilizado por bactérias (OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022).

#### **2.4.4. Produção de sideróforos por microrganismos**

O ferro (Fe) é um importante micronutriente, exercendo papel na regulação de processos celulares fundamentais para o crescimento e desenvolvimento do vegetal. Trata-se de um importante co-fator enzimático, envolvido com a fotossíntese, respiração celular, além da síntese e proteção do DNA. Sua falta causa queda da taxa de fotossíntese, clorose, além de afetar a qualidade e produtividade das colheitas (HAKIM et al., 2021).

Uma importante estratégia de obtenção deste metal traço pelas plantas é mediada por microrganismos produtores de sideróforos, uma classe de moléculas com baixo peso molecular, capazes de complexar metais, principalmente o ferro em estado insolúvel (HAKIM et al., 2021; BENITE, MACHADO, MACHADO, 2002; BATISTA et al., 2018).

A produção de sideróforos também pode estar relacionada à solubilização de fosfato, pois alguns microrganismos podem solubilizar formas indisponíveis de P complexado em moléculas de ferro por meio da produção dessas moléculas. Além disso, os quelantes de ferro impedem a captação desse micronutriente por microrganismos patogênicos presentes no solo, atuando, desse modo, na manutenção da saúde da planta. (BATISTA et al., 2018; SILVA et al., 2022).

#### **2.4.5. Produção de biofilme por microrganismos**

Alguns microrganismos são capazes de formar comunidades bem organizadas, cooperativas e aderidas entre si e à uma superfície por meio da produção de biofilme. Majoritariamente, o biofilme é composto por células microbianas e uma matriz de exopolissacarídeos. A formação dessas comunidades de microrganismos aderidas a superfícies proporciona vantagens, tais como proteção contra agentes antimicrobianos, disponibilidade de nutrientes e aquisição de novas características genéticas, por meio da transferência horizontal de genes (KOKARE et al., 2008).

Durante o crescimento vegetal, o biofilme é formado em consequência da interação entre os microrganismos e a planta, tendo papel na colonização das raízes, na proteção das células à privação de nutrientes, fagocitose e alterações de pH. Ainda, quanto à mobilização de potássio, a produção de biofilme é um mecanismo potencial, pois quando cepas de microrganismos formam biofilme nas superfícies minerais da rizosfera, ocorre a liberação de ácidos orgânicos e metabólitos, os quais contribuem para a diminuição do pH, auxiliando, assim, na absorção de potássio pela planta solo (REZENDE et al., 2021; ALVES et al., 2021).

A secreção de polissacarídeos também confere estabilidade para a planta em situações na quais há limitação de água. O interior das moléculas dos exopolissacarídeos constituintes do biofilme é repleto de água, o que lhes confere uma característica hidrofílica, favorecendo a absorção e retenção de água. Assim, quando bactérias produtoras de biofilme colonizam a região da rizosfera, protegem as raízes do vegetal da secagem do solo (REZENDE et al., 2021).

### 3. OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo geral verificar o potencial de bactérias isoladas da rizosfera da cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) como promotoras de crescimento em plantas de soja e algodão.

#### 3.1. Objetivos específicos:

- Isolar e purificar os microrganismos presentes na amostra de solo rizosférico de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*);
- Selecionar dentre os isolados aqueles que apresentaram rápido crescimento e caracterizá-los quanto à fixação de N<sub>2</sub>, solubilização de fosfato e potássio e quanto à produção de sideróforos e biofilme;
- Selecionar os microrganismos mais promissores para serem testados como inoculantes em ensaios em casa de vegetação utilizando as culturas de soja e algodão;
- Analisar parâmetros biométricos dos vegetais: altura, massa fresca da parte aérea, massa seca da raiz, massa seca da parte aérea, número de vagens e massa das vagens para a soja.

### 4. METODOLOGIA

#### 4.1. Coleta da amostra de solo rizosférico

A coleta de solo foi realizada em uma área de cerrado localizada no município de Bambuí-MG (20°02'04.1"S 45°59'29.8"W) (Figura 2).



Figura 2. Local de coleta. Fonte: Google Maps.

## 4.2. Isolamento das bactérias

Foi realizada uma diluição seriada a partir da amostra de solo rizosférico de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) macerada com solução salina 0,85% esterilizada. Inicialmente, adicionou-se 9 mL de solução salina 0,85% a 1 g da amostra, obtendo-se a diluição  $10^{-1}$ . Em seguida, 1 mL da solução diluída a  $10^{-1}$  foi adicionada a um tubo cônico com 9 mL de solução salina 0,85% e assim sucessivamente, até a diluição  $10^{-6}$ .

Posteriormente, 100  $\mu$ L de cada amostra, com concentrações de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ , foram espalhadas sobre meio nutriente ágar (NA) em placas de Petri e incubadas a 30°C. No dia seguinte, verificou-se o crescimento de colônias bacterianas isoladas nas placas e, então, realizou-se o repique para novas placas de meio NA com base em características visuais distintas (morfologia, cor, borda, textura e tamanho) e velocidade de seu crescimento.

## 4.3. Testes qualitativos *in vitro*

Após a purificação, as bactérias selecionadas foram testadas em meios específicos para avaliação da capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de fosfato inorgânico, solubilização de potássio e para a produção de sideróforos e biofilme.

### 4.3.1. Avaliação da capacidade de fixação de $N_2$

Para verificar se entre as bactérias isoladas haviam fixadoras de nitrogênio atmosférico foi utilizado o meio NFb semi-sólido, preparado de acordo com Baldani et al. (1986). Para 200 mL de meio, utilizou-se 1g de ácido málico; 0,1g de  $K_2HPO_4$ ; 0,04g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,02g de NaCl; 0,004g de  $CaCl_2 \cdot H_2O$ ; 0,4 mL de solução de micronutrientes (0,04 g/L de  $CuSO_4 \cdot 7 H_2O$ ; 1,2 g/L de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 1,4 g/L de  $H_3BO_3$ ; 1,0 g/L de  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ; 1,175 g/L de  $MnSO_4 \cdot H_2O$ ); 0,4 mL de solução de azul de bromotimol (1 mg de azul de bromotimol; 50 mL de etanol; 50 mL de água destilada); 0,8 mL de FeEDTA 4M; 0,1 mL de solução de vitaminas (0,1 g/L de biotina; 0,02 g/L de piridoxina); 0,9g de KOH e 0,36g de ágar. O pH final do meio foi ajustado para 6,8.

Primeiramente, as colônias de bactérias foram repicadas a partir das placas de Petri contendo NA para tubos de vidro de 15 mL, previamente autoclavados, contendo 5 mL de meio NFb cada, então, a cada três dias foram realizados novos repiques em NFb, visando o esgotamento das reservas bacterianas de nitrogênio. Ao todo foram realizados quatro repiques em NFb para cada isolado e, ao final, foi verificado se houve crescimento microbiano, indicando resultado positivo para a capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico.

#### **4.3.2. Solubilização de fosfato inorgânico e potássio**

Os isolados foram inoculados anteriormente em meio NB, por 24 h e deixados sob agitação de 130 rpm. Para a verificação da capacidade das bactérias em solubilizar fosfato inorgânico, utilizou-se o meio NBRIP (Nautiyal, 1999) modificado, contendo glicose (10g/L), NaCl (1g/L), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (1g/L), NH<sub>4</sub>Cl (5g/L), Ca<sub>3</sub>HPO<sub>4</sub> (0,8g/L) e ágar (15g/L), com pH final de 7,2. Posteriormente, os cultivos bacterianos foram inoculados sobre o meio sólido na forma de gotas de 5 µL com o auxílio de uma micropipeta. As placas foram incubadas a 30°C por três dias.

Para avaliar a capacidade de solubilização de potássio dos isolados, 5 µL dos cultivos foram aplicados sobre placas de Petri contendo meio NBRIP (Nautiyal, 1999) modificado, composto de glicose (10g/L), NaCl (1g/L), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (1g/L), NH<sub>4</sub>Cl (5g/L), glauconita (0,8g/L), ágar (15g/L), com pH final de 7,2. As placas foram incubadas por três dias a 30°C.

Em ambos os ensaios os resultados positivos foram observados a partir da formação de halos translúcidos ao redor das colônias das bactérias.

#### **4.3.3. Verificação da produção de sideróforos**

As bactérias purificadas foram inoculadas em tubos de vidro autoclavados contendo 5 mL de meio caldo nutriente (NB). Os inóculos foram deixados em mesa agitadora, a 130 rpm, por 24 horas, quando verificou-se o crescimento dos microrganismos pela turbidez do meio. Então, 5 µL de cada inóculo foram adicionados sobre uma placa de Petri contendo meio sólido preparado a partir da mistura de uma solução corante, NB 10% e ágar (15g/L), uma adaptação do método proposto por

Schwyn e Neilands, 1987. As placas foram incubadas a 30°C e os resultados foram analisados após três dias.

A solução corante utilizada foi obtida a partir de uma mistura de três soluções:

I-) 0,06g de cromoazurol-S (CAS) e 50 mL de H<sub>2</sub>O destilada;

II-) 0,0027g de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O em 10 mL de HCl 10 mM;

III-) 0,073g de HDTMA em 40 mL de H<sub>2</sub>O destilada.

Primeiramente, misturou-se as soluções I e II, posteriormente, a solução resultante foi misturada com III e o pH foi ajustado para 6,8.

#### **4.3.4. Produção de biofilme**

Para verificar a capacidade dos isolados bacterianos em formarem biofilmes, foi utilizado o meio proposto por Freeman, Falkiner e Keane, (1989) com modificações, composto por ágar triptona de soja (TSA) (40g/L), suplementado com glicose (5g/L) e corante vermelho Congo (0,4g/L). Com o auxílio da alça de inoculação de platina, transferiu-se uma colônia de cada isolado do meio NA para o meio contendo o corante vermelho Congo, posteriormente, as bactérias foram incubadas a 30° por 24 horas. Os resultados positivos foram verificados a partir da formação de colônias escuras pelos isolados, indicando a produção de exopolissacarídeos, composto básico na formação de biofilmes.

#### **4.4. Testes em casa de vegetação**

Os três microrganismos mais promissores, dentre aqueles submetidos aos *in vitro*, foram selecionados para testes em casa de vegetação, utilizando as culturas de soja e algodão. Cada cultura foi submetida a quatro tratamentos: controle (não inoculado), tratamento com o isolado 02, tratamento com o isolado 04 e tratamento com o isolado 06, sendo que cada um deles apresentou 6 repetições, totalizando 24 plantas de soja e 24 plantas de algodão.



#### 4.4.1. Semeadura

Foram semeadas duas sementes por vaso, com capacidade de 2,8 L, contendo uma mistura de substrato comercial Tropstrato® (recomendado para a produção de café, flores, citrus tubete e hortaliças, composto por casca de pinus, carvão vegetal, superfosfato simples e vermiculita) e areia na proporção 1:1 (v/v). O desbaste foi realizado logo após emergência, restando uma planta por vaso.

#### 4.4.2. Inoculação dos microrganismos em soja

Para a cultura de soja foi realizado o tratamento das sementes com os microrganismos e uma aplicação foliar no estágio vegetativo. Na inoculação via sementes utilizou-se células e também os metabólitos extracelulares liberados para o meio de cultivo. As três bactérias foram crescidas em frascos Erlenmeyer contendo 200 mL de meio NB cada, por 24 horas, sob agitação de 130 rpm, à temperatura ambiente. Posteriormente, a densidade óptica (DO) dos cultivos foi determinada em espectrofotômetro a 600 nm, sendo, a seguir, realizada a diluição de todos os inóculos para a  $DO_{600nm} = 1,0$ , utilizando meio NB.

A recomendação contida no rótulo do produto BiomaPhos® (*Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*) foi utilizada como base para os cálculos da quantidade de inóculo a ser aplicado por semente de soja. Considerando que cada mL de BiomaPhos® contém  $4 \cdot 10^9$  células, sendo recomendada a aplicação de 100 mL do produto para 50 kg de sementes, calculou-se que para 12 sementes de soja utilizadas por tratamento, seriam necessários 40,32  $\mu$ L de inóculo. O tratamento das sementes foi realizado em sacos plásticos para cada tratamento, sendo que o grupo controle recebeu apenas o meio NB, enquanto as sementes dos tratamentos 1, 2 e 3 foram tratadas com as células e os metabólitos extracelulares de 02, 04 e 06, respectivamente (Figura 3-a).

Para a aplicação foliar, realizada no estágio vegetativo V2, os isolados foram inoculados em frascos Erlenmeyer contendo 200 mL de meio NB cada e colocados na mesa agitadora, a 130 rpm, por 24 horas. Nesta aplicação foram utilizadas apenas as células, então, após o período de crescimento mencionado, as suspensões bacterianas foram centrifugadas a 11.000 rpm, por 10 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e as células foram

ressuspendidas em 10 mL de água destilada. Foi realizada a leitura da densidade óptica no espectrofotômetro a 600 nm e, em sequência, realizada a diluição, também com água destilada, até que se atingisse a DO de 0,2.

A aplicação foliar ocorreu no estágio V2 até o ponto de escorrimento. Foram realizados 4 tratamentos, cada qual com 6 repetições, totalizando 24 plantas de soja. O grupo controle recebeu apenas água destilada, enquanto os tratamentos 1, 2 e 3 receberam soluções contendo os microrganismos 02, 04 e 06, respectivamente, na concentração estabelecida ( $DO_{600\text{ nm}} = 0,2$ ) (Figura 3-b).

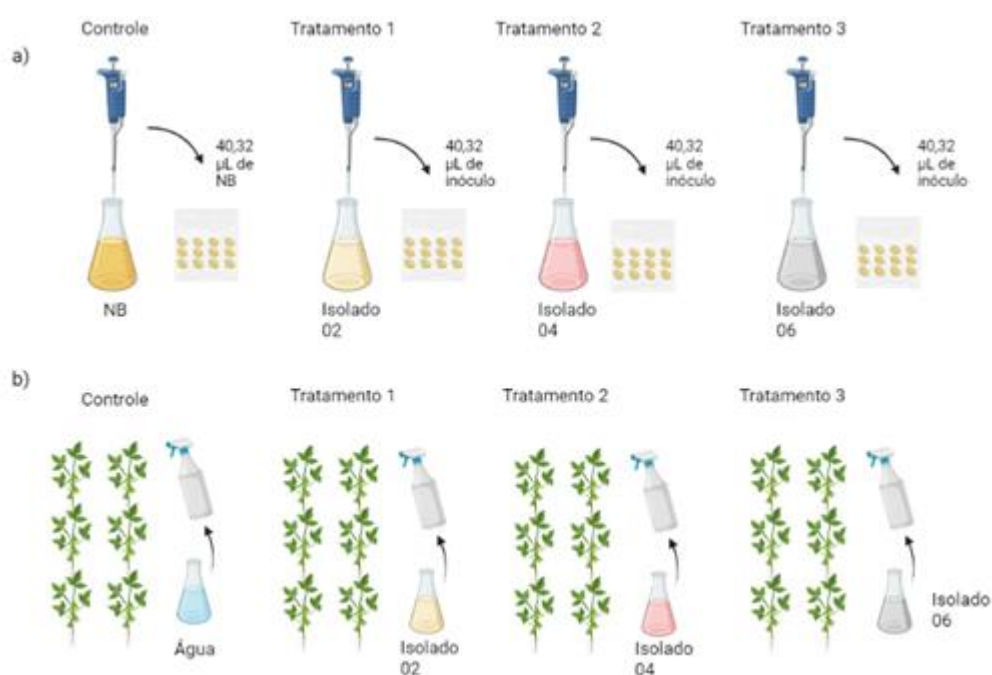


Figura 3. a) Tratamento das sementes das plantas de soja. b) Aplicação foliar dos microrganismos nas plantas de soja. Fonte: A autora (2023).

#### 4.4.3. Inoculação dos microrganismos em algodão

Para a cultura do algodão, cujas sementes disponíveis haviam sido tratadas com fungicida, as bactérias foram inoculadas via aplicação foliar durante o período vegetativo. Ao todo, foram realizadas três aplicações em intervalos de 7 dias.

De maneira análoga à aplicação foliar realizada para a cultura da soja, os três microrganismos foram crescidos em 200 mL de NB em frascos Erlenmeyer, os quais foram submetidos à agitação de 130 rpm, por 24 h, à temperatura ambiente. Após

esse período, as amostras foram colocadas em tubos cônicos de 15 mL e centrifugadas a 11.000 rpm, durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, descartou-se o sobrenadante e as células foram ressuspensas em 10 mL de água destilada. Então, foi feita a leitura da densidade óptica dos cultivos bacterianos em espectrofotômetro a 600 nm e foi realizada a diluição das amostras, com água destilada para  $DO_{600\text{ nm}} = 0,2$ . As aplicações foram feitas até o ponto de escorrimento das folhas (Figura 4).

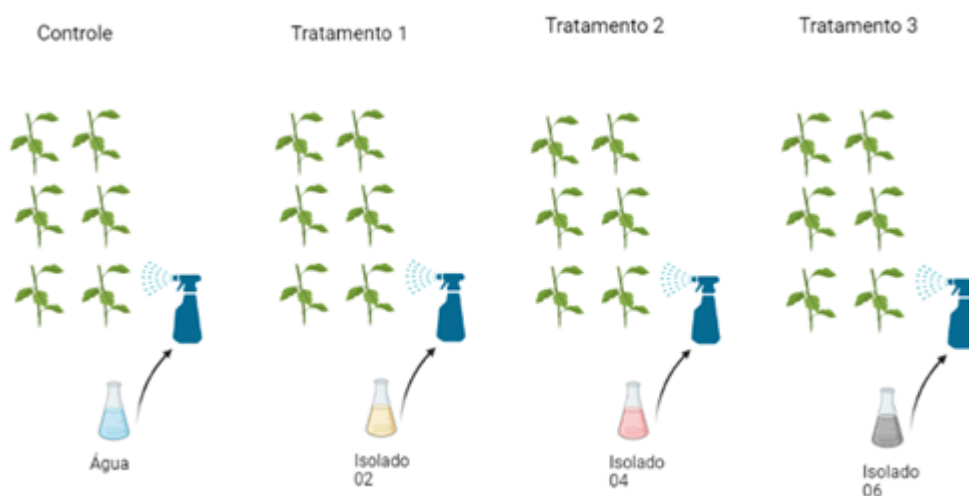


Figura 4. Aplicações foliares realizadas nas plantas de algodão de acordo com o tratamento. Fonte: A autora (2023).

## 4.5. Parâmetros avaliados

### 4.5.1. Altura

A altura foi aferida em centímetros, medindo a distância entre o colo e a gema apical da planta, com o auxílio de uma trena.

### 4.5.2. Determinação do número e massa das vagens

No total, foram 4 tratamentos (controle, tratamento com o isolado 02, tratamento com o isolado 04 e tratamento com o isolado 06) com 6 repetições cada, totalizando 24 plantas de soja. Contou-se o número de vagens de cada planta por tratamento. Em seguida, as vagens foram retiradas das plantas e colocadas em béqueres, separadas

de acordo com o tratamento, para que fossem pesadas com o auxílio de uma balança analítica. Assim, determinou-se a massa das vagens por tratamento.

#### 4.5.3. Determinação da massa fresca aérea

A parte aérea foi separada da raiz e, em seguida, teve sua massa determinada com o uso de uma balança analítica.

#### 4.5.4. Determinação da massa seca aérea e das raízes

As raízes, previamente separadas da parte aérea, foram lavadas com água corrente, e, posteriormente, colocadas em sacos de papel, bem como a parte aérea. Em seguida, as amostras foram colocadas em estufa de circulação de ar, onde permaneceram por 72 horas, a 65°C. Após esse período, a massa seca foi determinada utilizando uma balança analítica.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Testes qualitativos *in vitro*

Dentre os microrganismos isolados, foram selecionadas nove bactérias para serem submetidas aos testes *in vitro*, devido ao seu rápido crescimento no meio de cultivo utilizado (NA), característica interessante para o desenvolvimento de um bioproduto em escala comercial.

#### 5.1.1. Capacidade de fixação de N<sub>2</sub>

Após três repiques consecutivos, somente cresceram no meio de cultivo as bactérias positivas para este ensaio (Tabela 1).

Tabela 1. Teste para verificação da capacidade de fixação de N<sub>2</sub> pelos microrganismos isolados selecionados.

Isolado	Fixou N <sub>2</sub>	Não fixou N <sub>2</sub>
01		X
02	X	
04	X	

05		X
06	X	
07	X	
08	X	
10		X
11	X	

Fonte: A autora (2022).

Foram considerados fixadores de N<sub>2</sub> os isolados 02, 04, 06, 07, 08 e 11. Para a cultura de soja, o N é o nutriente requerido em maior quantidade, sendo necessário aproximadamente 80 kg de N para 1000 kg de sementes (HUNGRIA, NOGUEIRA, 2020). Para o algodoeiro, por sua vez, a quantidade de N necessário varia de 48 a 85 ha<sup>-1</sup> para produzir uma tonelada de algodão em caroço, sendo o nutriente essencial mais absorvido durante seu ciclo de vida (ROSOLEM et al., 2012). Deste modo, observa-se a importância do nutriente para as culturas da soja e algodão, sendo a capacidade de fixação de N<sub>2</sub> um fator extremamente relevante para a escolha dos microrganismos inoculados nas plantas testadas em casa de vegetação.

### 5.1.2. Ensaio de solubilização de fosfato

A capacidade de solubilizar fosfato a partir de fontes inorgânicas (Ca<sub>3</sub>HPO<sub>4</sub> e fosfato natural reativo) foi verificada pela formação de halos translúcidos ao redor das colônias (Figura 5).

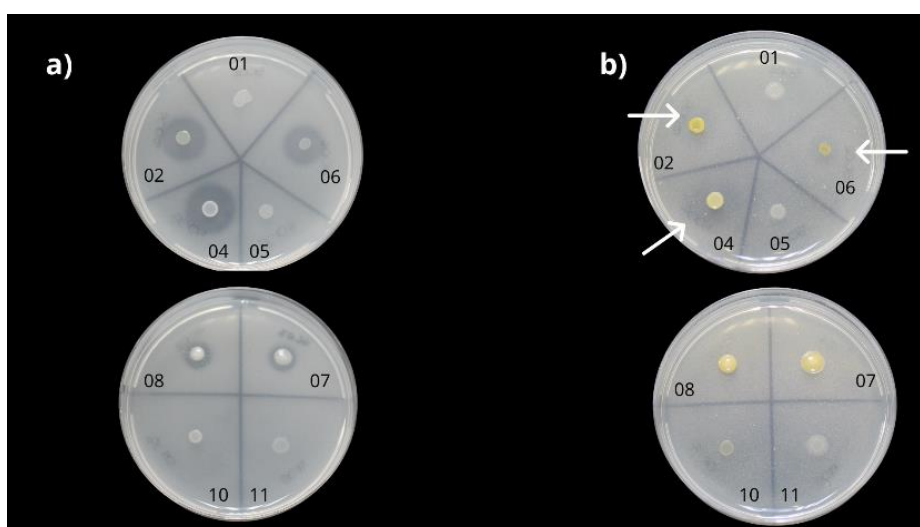


Figura 5. a) Teste de solubilização de fosfato inorgânico (Ca<sub>3</sub>HPO<sub>4</sub>), no qual os isolados 02, 04, 06, 07 e 08 testaram positivo. b) Teste de solubilização de fosfatos naturais reativos (resultados positivos indicados por setas). Fonte: A autora (2022).

Os isolados 02, 04, 06, 07 e 08 solubilizaram fosfato a partir do  $\text{Ca}_3\text{HPO}_4$ , sendo que os maiores halos são observados ao redor das colônias das bactérias 02, 04 e 06, indicando maior eficiência na solubilização do nutriente. Com relação à solubilização de fosfatos naturais reativos, somente os isolados 02, 04 e 06 foram considerados solubilizadores (indicados por setas).

Segundo Oliveira-Paiva et al. (2022), o uso de inoculantes para aumentar a absorção de fósforo na cultura de soja mostrou um aumento da produtividade na área onde o produto foi aplicado, podendo, futuramente, resultar na aplicação de menores doses de fertilizantes fosfatados no campo. Ainda, em outros testes com inoculantes observou-se maior enchimento dos grãos e maior massa seca da parte aérea e radicular das plantas.

Em culturas como café, cana-de-açúcar, sorgo e algodão, para as quais não é tão usual a aplicação de inoculantes, observou-se um impacto econômico positivo após seu uso, resultante da melhora da absorção de nutrientes e do aumento da produtividade (VIANA, 2021).

### **5.1.3. Ensaio de solubilização de potássio**

A presença de solubilizadores de potássio entre as bactérias isoladas foi verificada por meio de um teste utilizando glauconita como fonte inorgânica de K. As bactérias 02, 04 e 06 apresentaram halos ao redor de suas colônias, indicando a capacidade de solubilizar o K presente no meio, enquanto os isolados 01, 05, 07, 08 10 e 11 foram considerados não solubilizadores de K (Figura 6).

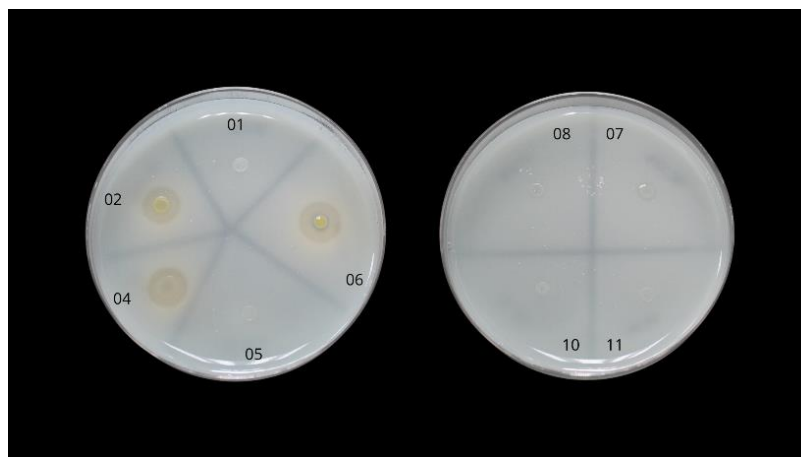


Figura 6. Teste de solubilização de potássio a partir da glauconita, com resultado positivo para os isolados 02, 04 e 06. Fonte: A autora (2022).

De acordo com Oliveira-Paiva et al. (2022), a inoculação de sementes e plântulas com microrganismos solubilizadores de K resulta em um aumento da produção da cultura, da porcentagem de germinação da semente, do vigor e crescimento da planta, bem como na absorção de K, tendo como referências resultados experimentais em casa de vegetação e campo.

O algodoeiro necessita de aproximadamente 60 kg ha<sup>-1</sup> de K para cada tonelada de algodão em sementes, sendo que durante o florescimento ocorre a taxa máxima de absorção (ROSOLEM et al., 2012). Já para a soja, o K é o segundo nutriente mais requisitado e para uma produtividade média de grãos de 3,4 t/ha, tem-se 165 kg/ ha de K acumulado pela parte aérea das plantas (OLIVEIRA-PAIVA et al., 2022).

#### 5.1.4. Ensaio de produção de sideróforos

As bactérias com resultado positivo para a produção de sideróforos apresentaram um halo alaranjado ao redor de suas colônias (isolados 02, 04, 06, 07 e 08), resultante do sequestro do ferro quelado ao corante CAS, realizado pelos sideróforos bacterianos liberados no meio (Figura 7).

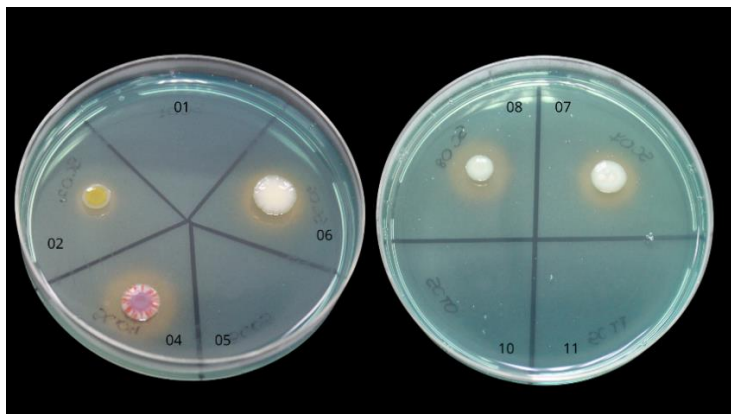


Figura 7. Teste de produção de sideróforos pelos isolados selecionados. A formação dos halos alaranjados ao redor dos isolados 02, 04, 06, 07 e 08 indica resultado positivo. Fonte: A autora (2022).

A aplicação de bactérias produtoras de sideróforos em diversas culturas, como arroz, milho e trigo, mostraram melhora no seu crescimento e produtividade, em decorrência do aumento da disponibilidade do ferro (HAKIM et al., 2021).

#### 5.1.5. Ensaio de produção de biofilme

A produção de exopolissacarídeos pelos isolados foi verificada por meio da análise da coloração das colônias em meio contendo o corante vermelho Congo. As bactérias que apresentaram colônias escuras, secas ou cristalinas, foram consideradas formadoras de biofilme, enquanto aquelas cujas colônias eram avermelhadas com aspecto liso e escurecido no centro foram consideradas não formadoras (LIMA et al., 2017). Assim, de acordo com esses critérios, os isolados 02, 04 e 06 foram considerados produtores de biofilme (Figura 8).

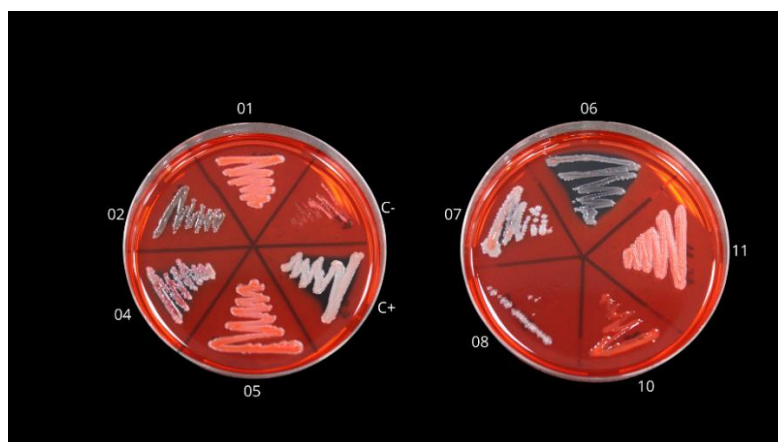


Figura 8. Teste para a produção de biofilme pelos isolados em meio contendo o corante vermelho Congo. Os isolados 02, 04 e 06 foram considerados formadores de biofilme. Fonte: A autora (2022).



Como controle positivo utilizou-se uma bactéria da coleção que já havia sido testada anteriormente e considerada produtora de biofilme, enquanto outra bactéria da coleção considerada não produtora foi utilizada como controle negativo.

Estresses ambientais (salinidade, seca, nutrição e ataque de patógenos) podem ser amenizados pela produção de biofilme por microrganismos rizosféricos promotores de crescimento (BHATIA, GULATI, SETHI, 2020).

## 5.2. Avaliação dos parâmetros biométricos

A partir dos dados obtidos experimentalmente, foram plotados gráficos das médias de cada tratamento, incluindo o controle. A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o programa R Studio, por meio do teste de Scott-Knott, com nível de significância de 0,1.

### 5.2.1. Avaliação das plantas de soja e algodão

As plantas de soja foram avaliadas 80 dias após a semeadura, quando todas as plantas se encontravam no seu estágio reprodutivo ( $R_n$ ) (Figura 9).

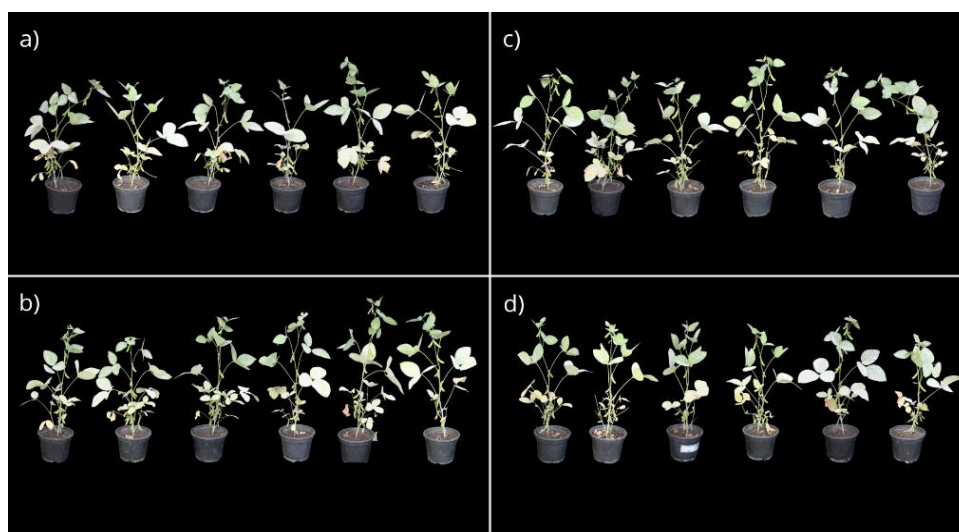


Figura 9. Plantas de soja dos diferentes tratamentos. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022).

A avaliação das plantas de algodão foi realizada 90 dias após a semeadura. No momento da avaliação, a maioria das plantas estava no estágio fenológico de aparecimento dos botões florais ( $B_n$ ) (Figura 10).

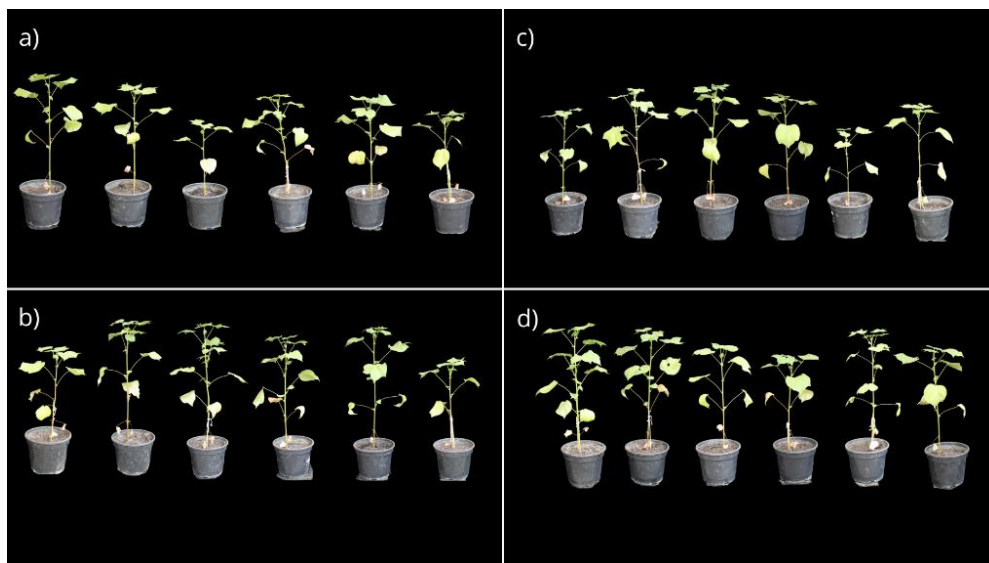


Figura 10. Plantas de algodão dos diferentes tratamentos. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022).

#### 5.2.1.1. Altura

De acordo com os dados obtidos, as plantas de soja tratadas com as bactérias isoladas variaram sua altura em relação ao controle, embora não haja diferença estatística significativa entre os tratamentos (Figura 11).

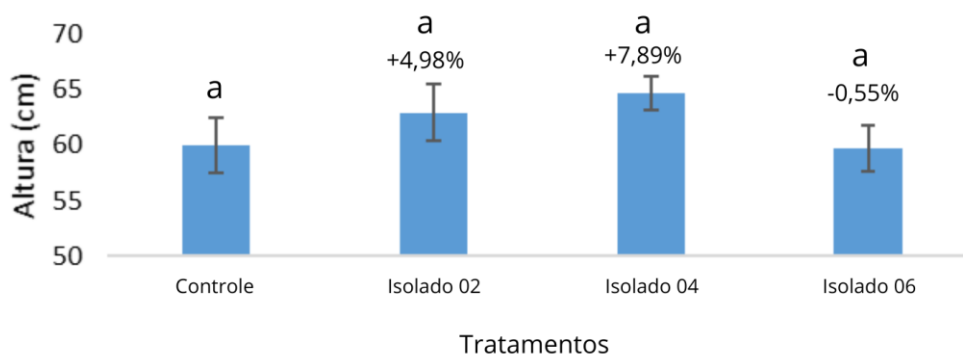


Figura 11. Alturas médias das plantas de soja por tratamento. Fonte: A autora (2022).

As plantas pertencentes aos grupos inoculados com os isolados 02 e 04 apresentaram maior distância do colo até a gema apical, comparativamente ao controle, o que representou um acréscimo de 4,98% e 7,89%, respectivamente.

Contudo, as plantas inoculadas com o isolado 06 apresentaram um decréscimo de 0,55% na média de sua altura quando comparado ao controle.

Para as plantas de algodão, todos os tratamentos com bactérias tiveram influência positiva sobre a altura das plantas, ainda que não haja diferença estatística significativa. Os tratamentos com os isolados 02 e 06 foram mais eficazes, com um aumento de 17,91% e 15,37%, respectivamente, em comparação ao controle, enquanto as plantas tratadas com o isolado 04 tiveram a média de sua altura aumentada de 6,76% (Figura 12).

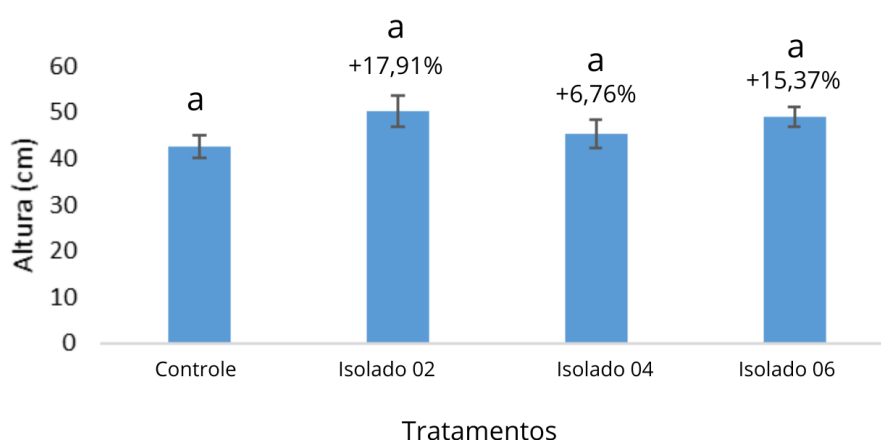


Figura 12. Alturas médias das plantas de algodão por tratamento. Fonte: A autora (2022).

A altura é um fator do crescimento vegetal influenciado por microrganismos rizosféricos promotores de crescimento, de acordo com Rezende et al. (2021). Fernández et al. (2007) relatou que plantas inoculadas com *Burkholderia* spp. PER2F, em condições de casa de vegetação, apresentaram maior altura quando comparadas com plantas que receberam outros tratamentos, com um aumento de 40% em relação aos controles não inoculados e de 60% em relação às plantas não inoculadas cujas sementes foram tratadas com P solúvel.

#### 5.2.1.2. Massa fresca aérea

Apesar de não haver diferença estatística significativa para o parâmetro observado, a massa fresca aérea das plantas de soja dos tratamentos com os isolados 02 e 04 apresentaram aumentos de 6,86% e 4,82%, respectivamente, em relação ao controle. Em contrapartida, o tratamento com o isolado 06 mostrou uma redução de 5,95% do parâmetro avaliado, comparativamente ao controle (Figura 13).

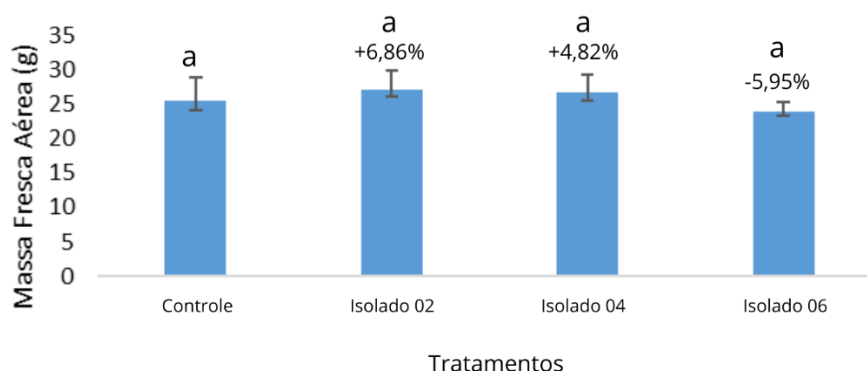


Figura 13. Médias das massas frescas aéreas das plantas de soja por tratamento. Fonte: A autora (2022).

As plantas de algodão submetidas aos tratamentos com os isolados 02 e 06 apresentaram um aumento em sua massa fresca aérea de 25,51% e 23,34%, respectivamente. Contudo, as plantas pertencentes ao grupo tratado com o isolado 04 tiveram uma redução de 1,33% em sua massa fresca aérea quando comparadas ao controle (Figura 14).

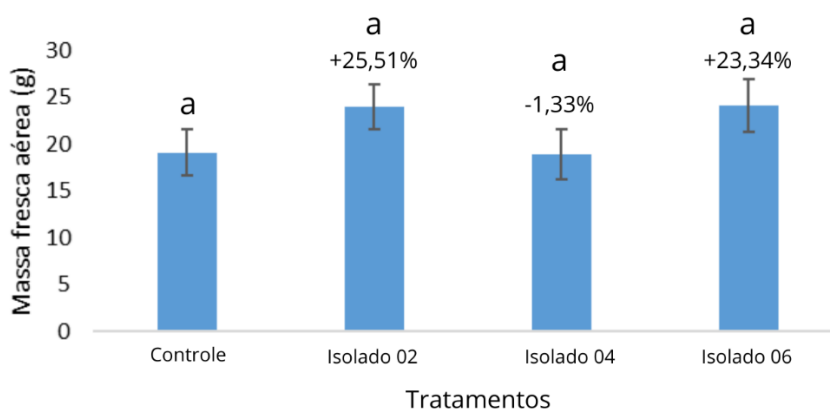


Figura 14. Médias das massas frescas aéreas das plantas de algodão por tratamento. Fonte: A autora (2022).

Observa-se que a inoculação do isolado 06 foi favorável para a cultura do algodão, ao contrário do que ocorreu para a cultura de soja. Nota-se, ainda, que o tratamento das plantas de soja com o isolado 04 promoveu, mesmo que discretamente, o aumento parâmetro avaliado, ao contrário do que ocorreu na cultura

de algodão, na qual as plantas inoculadas com o microrganismo 04 apresentaram um decréscimo em sua massa fresca aérea.

### 5.2.1.3. Massa seca aérea

Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos, mas observa-se que as plantas de soja tratadas com os isolados 02 e 04 apresentaram maior massa seca de sua parte aérea quando comparadas ao controle, o que corresponde a um aumento de 7,72% e 8,48%, respectivamente. Já as plantas inoculadas com o microrganismo 06, por sua vez, apresentaram uma redução de 5,95% em sua massa seca aérea (Figura 15).

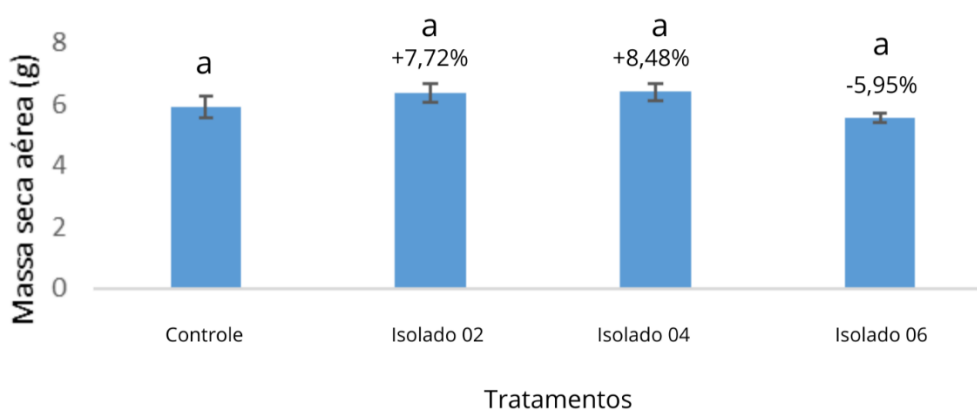


Figura 15. Médias das massas secas aéreas das plantas de soja por tratamento. Fonte: A autora (2022).

Para a cultura do algodão, percebe-se que os tratamentos com os isolados 02 e 06 promoveram um aumento de aproximadamente 22% cada na massa seca da parte aérea das plantas, enquanto as plantas inoculadas com o isolado 04 tiveram um decréscimo de 2,54% em sua massa seca aérea comparativamente ao controle (Figura 16).

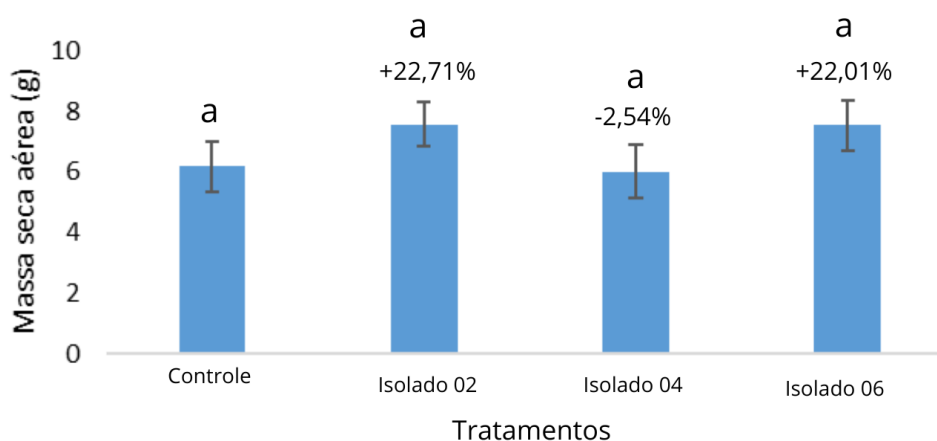


Figura 16. Médias das massas secas aéreas das plantas de algodão por tratamento. Fonte: A autora (2022).

Novamente, pode-se observar que o tratamento com o isolado 02 foi benéfico para ambas as culturas, promovendo um aumento do parâmetro avaliado, enquanto o mesmo não é observado para os demais tratamentos. Para a cultura da soja, a inoculação do isolado 04 proporcionou efeitos positivos, enquanto as plantas inoculadas com o isolado 06 apresentaram uma diminuição de sua massa seca aérea. Para a cultura de algodão ocorreu o oposto, o tratamento com o isolado 04 apresentou efeitos negativos, causando redução do parâmetro avaliado, enquanto o tratamento com o isolado 06 mostrou um aumento de 22% na massa seca aérea de suas plantas em comparação ao controle.

O aumento da massa seca aérea pode ser atribuído, segundo Reis Junior et al. (2008) às substâncias promotoras de crescimento produzidas pelos microrganismos inoculados.

#### 5.2.1.4. Massa seca da raiz

Bactérias rizosféricas promotoras de crescimento são capazes de afetar a morfologia das raízes das plantas, aumentando sua área de superfície e, conseqüentemente, influenciando a absorção de nutrientes (VESSEY, 2003). Anteriormente ao processo de secagem na estufa, para a avaliação da massa seca radicular, as raízes das plantas de soja e algodão foram agrupadas de acordo com o tratamento, sendo possível notar diferenças entre os grupos, principalmente para a

cultura do algodão, cujas plantas submetidas aos tratamentos com os isolados 02 e 06 apresentaram raízes maiores e mais ramificadas (Figuras 17 e 18).

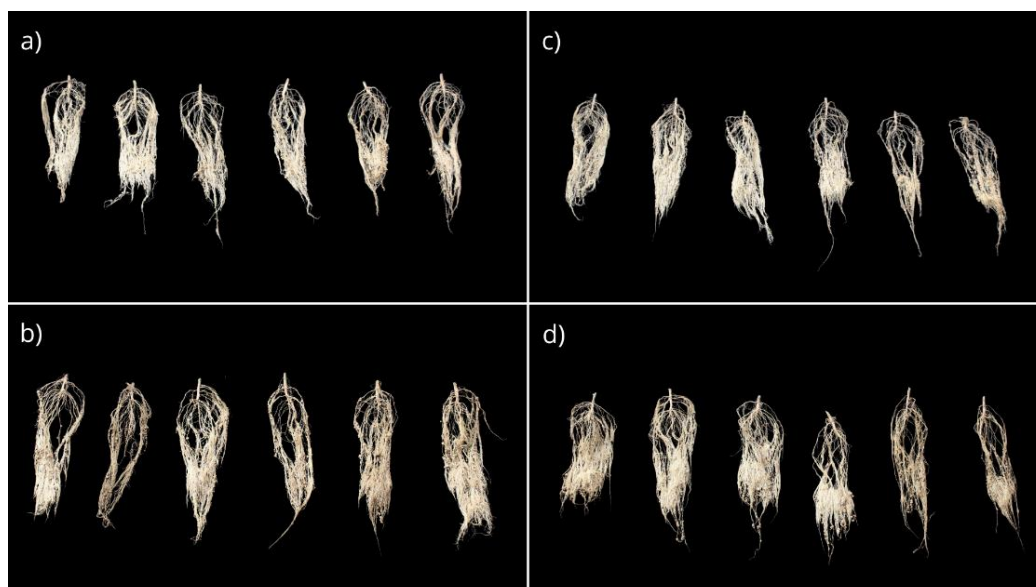


Figura 17. Raízes das plantas de soja dispostas por tratamento. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022).

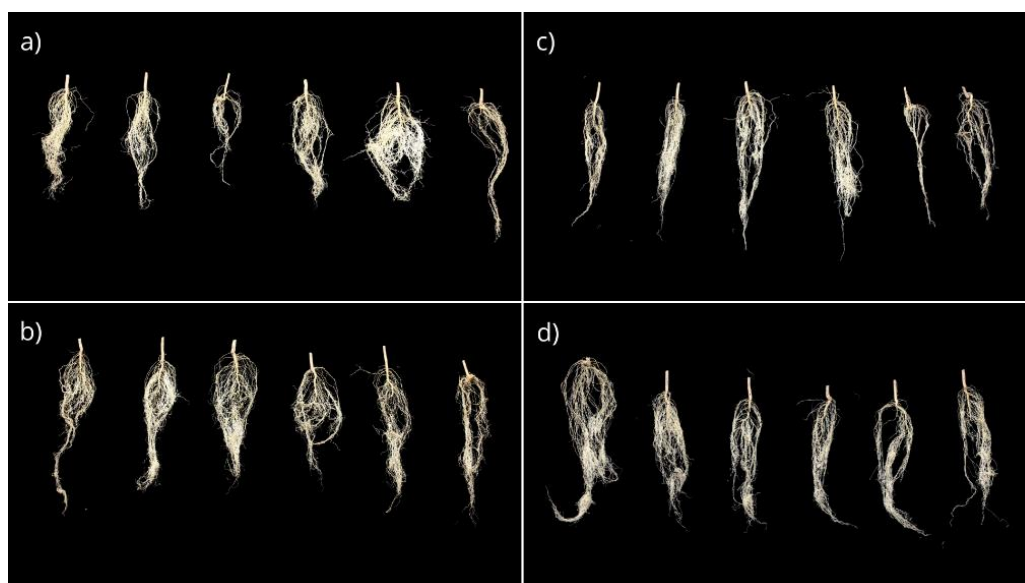


Figura 18. Raízes das plantas de algodão dispostas por tratamento. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022).

Posteriormente à secagem, houve a determinação da massa seca da raiz. As plantas de soja pertencentes aos tratamentos com os isolados 02 e 06 apresentaram um discreto aumento na massa seca de suas raízes quando comparadas ao controle, enquanto aquelas pertencentes ao grupo tratado com o isolado 04 obtiveram uma diminuição de 5,35% neste parâmetro, comparativamente ao controle (Figura 19).

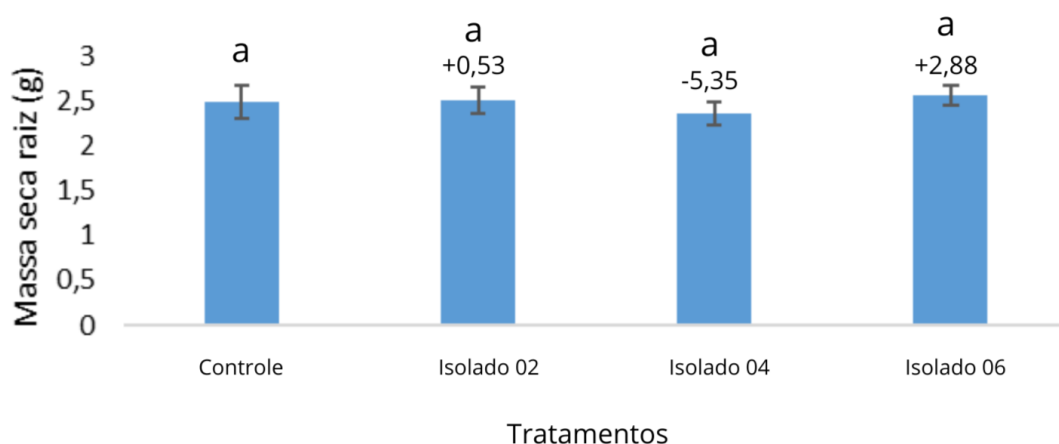


Figura 19. Médias das massas secas radiculares das plantas de soja por tratamento. Fonte: A autora (2022).

Para o parâmetro em questão, nas plantas de algodão houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. Percebe-se um aumento expressivo na massa seca radicular das plantas pertencentes aos tratamentos com os isolados 02 e 06, o que significou um aumento de 35,63% e 32,73%, respectivamente. Já as plantas pertencentes ao grupo tratado com o isolado 04, pouco variaram sua média em relação ao controle, apresentando um aumento de 1,93% (Figura 20).

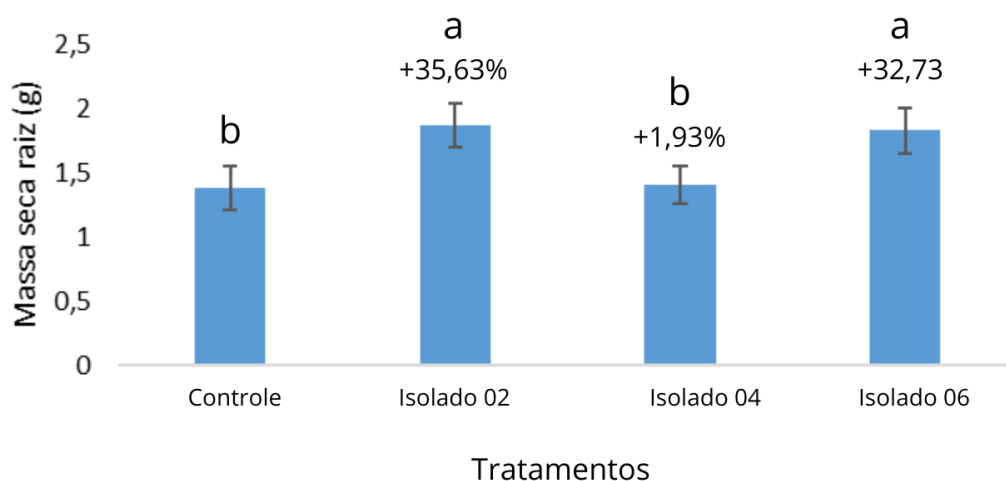


Figura 20. Médias das massas secas radiculares das plantas de algodão por tratamento. Fonte: A autora (2022).



### 5.2.1.5. Número de vagens

Com relação ao número de vagens na soja, houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. De acordo com os dados obtidos, percebe-se que as plantas tratadas com os isolados 02 e 04 obtiveram um aumento de 13,33% e 11,67%, respectivamente, quando comparados ao controle e às plantas inoculadas com o microrganismo 06, as quais apresentaram, em média, o mesmo número de vagens (Figuras 21 e 22).

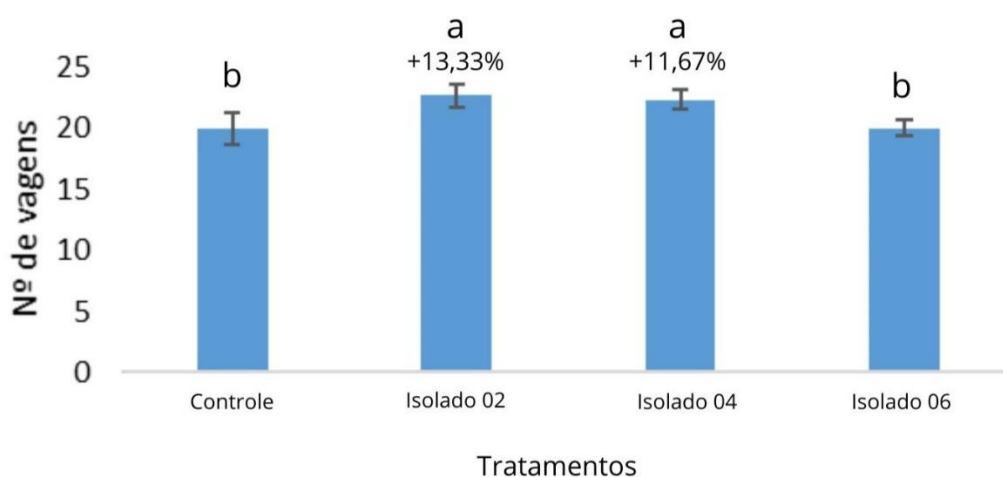


Figura 21. Médias do número de vagens de acordo com o tratamento. Fonte: A autora (2022).

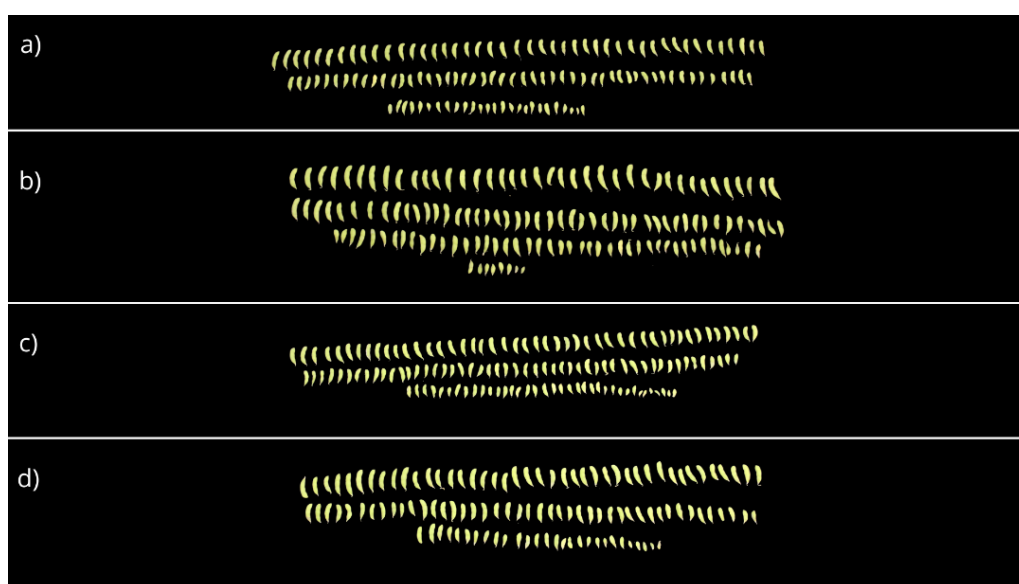


Figura 22. Vagens dispostas de acordo com o tratamento. a) Controle; b) Tratamento com o isolado 02; c) Tratamento com o isolado 04; d) Tratamento com o isolado 06. Fonte: A autora (2022).

Bulegon et al. (2016) descreveu um aumento do número de vagens das cultivares de soja CD 250 inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum*, em comparação ao controle, o que pode estar relacionado ao fornecimento de N resultante da simbiose, já que o nutriente é requerido em alta quantidade para a formação e manutenção das vagens na cultura de soja.

#### 5.2.1.6. Massa das vagens

No tocante à massa das vagens, os tratamentos com os isolados 01 e 02 apresentaram um aumento desse parâmetro, o que correspondeu a 8,54% e 3,19%, respectivamente. Já o tratamento com o isolado 06, em comparação ao controle, apresentou uma redução de 9,55% da massa de suas vagens (Figura 23).

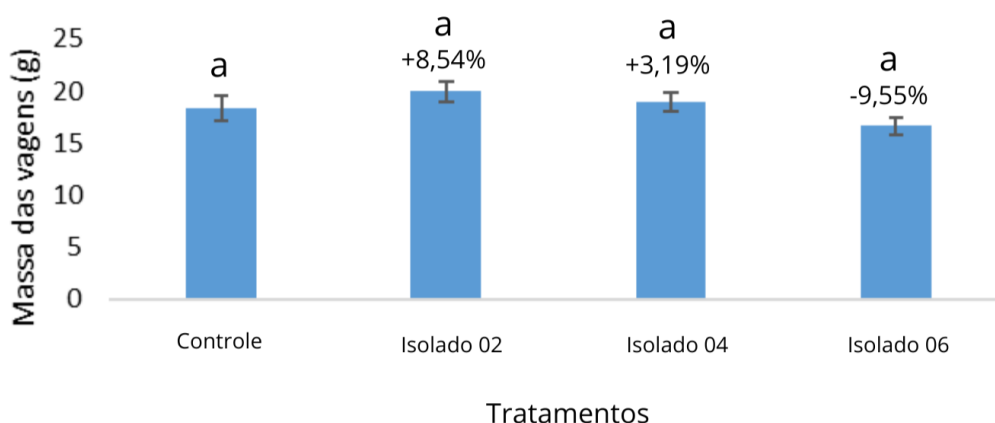


Figura 23. Médias das massas das vagens de acordo com o tratamento. Fonte: A autora (2022).

## 6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados dos testes *in vitro*, os três microrganismos, dentre os isolados de solo rizosférico de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*), considerados mais promissores foram utilizados nos testes em casa de vegetação, para verificar seus efeitos como promotores de crescimento nas culturas de soja e algodão. Para a cultura da soja, os isolados 02 e 04 aumentaram o número de vagens, enquanto para a cultura do algodão, a inoculação dos isolados 02 e 06 promoveu o aumento da massa seca radicular, mostrando a ação positiva destes microrganismos na promoção do crescimento vegetal. Os efeitos observados podem estar correlacionados à

capacidade destes microrganismos de fixar  $N_2$ , de solubilizar fosfatos e potássio, bem como de produzir biofilme e sideróforos. Nota-se, ainda, que a interação entre planta e microrganismo se difere de acordo com a espécie vegetal observada e que a inoculação de microrganismos promotores de crescimento vegetal aumenta a produtividade e sustentabilidade agrícola, favorecendo, assim, produtor e sociedade.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE ALGODÃO (Abrapa). Algodão no Brasil. **Abrapa**, 2022. Disponível em: <https://www.abrapa.com.br/Paginas/Dados/Algod%C3%A3o%20no%20Brasil.aspx>. Acesso em: 03 jan. 2023.
- ALCANTARA, I. R.; VEDANA, R.; VIEIRA FILHO, J. E. R. Produtividade do algodão no Brasil: uma análise da mudança estrutural. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada**, Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: DOI: <http://dx.doi.org/10.38116/td2682>. Acesso em: 03 dez. 2022.
- ALVES et al. Solubilização de potássio presente em minerais por microrganismos e efeitos no desenvolvimento de culturas agrícolas. **Embrapa Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, 2021. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/225889/1/Doc-264-Solubilizacao-de-potassio.pdf>. Acesso em: 04 dez. 2022.
- AZEVEDO, J.L. Microrganismos endofíticos. **Ecologia microbiana** (I.S. Melo & J.L. Azevedo, coords.). Editora Embrapa, CNPMA, Jaguariuna p.117-137, 1998.
- BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. 1986. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 36, p. 86-93. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00207713-36-1-86>. Acesso em: 23 dez. 2022.
- BATHIA, R.; GULATI D.; SETHI G. Biofilms and nanoparticles: applications in agriculture. **Folia Microbiologica**, v. 66, p. 159-170, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00851-7>. Acesso em: 04 dez. 2022.
- BATISTA et al. Potencial de microrganismos rizosféricos e endofíticos de milho em solubilizar o fosfato de ferro e produzir sideróforos. **Embrapa Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, 2018. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/183975/1/bol-166.pdf>. Acesso em: 04 dez. 2022.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; MACHADO, B. C. Sideróforos: uma resposta dos microrganismos. **Química Nova**, v. 25, p. 1155-1164, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700016>. Acesso em: 04 dez. 2022.
- BULEGON et al. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, v. 32, n. 2, 2016.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, v. 9, safra 2021/22, 12º levantamento, n. 12, 2022. Acesso em 03 jan. 2023.
- EMBRAPA. **Trilha tecnológica**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agrossilvipastoril/sitio-tecnologico/trilha-tecnologica/tecnologias/culturas/algodao>. Acesso em: 01 dez. 2022.

FAQUIN, V. Nutrição mineral de plantas. **Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Solos e Meio Ambiente**. Editora - UFLA/FAEPE, Lavras, 2005.

FERNÁNDEZ et al. Phosphate-solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v. 43, p. 805–809, 2007. Disponível em: doi:10.1007/s00374-007-0172-3. Acesso em: 02 dez. 2022.

FREEMAN, D.J.; FALKINER F.R.; KEANE, C.T. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. **J. Clin. Pathol**, v. 42, p. 872-874, 1989. Disponível em: doi: 10.1136/jcp.42.8.872.

GOMES et al. Microrganismos promotores do crescimento de plantas. **Embrapa Milho e Sorgo**, Sete Lagoas 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/161283/1/doc-208.pdf>. Acesso em: 14 dez. 2022.

HAKIM et al. Rhizosphere engineering with plant growth-promoting microorganisms for agriculture and ecological sustainability. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.617157>. Acesso em: 04 dez. 2022.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. **Tecnologias de produção de soja**. Fixação biológica de nitrogênio. Capítulo 8, Londrina: Embrapa Soja, 2020. p. 185-195. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/223209/1/SP-17-2020-online-1.pdf>. Acesso em: 04 dez. 2022.

KOKARE et al. Biofilm: importance and applications. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 8, p. 159-168, 2009.

LIMA et al. Análise da produção de biofilme por isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica. **Rev Bras Ter Intensiva**, v.29, p. 310-316, 2017. Disponível em: DOI: [10.5935/0103-507X.20170039](https://doi.org/10.5935/0103-507X.20170039). Acesso em: 02 dez. 2022.

MAÇIK, M.; GRYTA, A.; FRĄC, M. Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. **Advances in Agronomy**, Lublin, v. 162, p. 31-87, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.02.001>. Acesso em 28 nov. 2022.

MAZUTI SILVA et al. Eugenia dysenterica Mart. Ex DC. (cagaita): planta brasileira com potencial terapêutico. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 27, p. 49-95, 2015. Disponível em DOI: <http://dx.doi.org/10.14450/2318-9312.v27.e1.a2015.pp49-95>. Acesso em: 04 dez. 2022.

MELO, C.B. Algodoeiro. **Embrapa**, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/4054001/algodoeiro#:~:text=O%20algodoeiro%20%C3%A9%20o%20nome,fi bra%20t%C3%AAxtil%20conhecida%20como%20algod%C3%A3o>. Acesso em: 05 nov. 2022.

MIRANDA, R. Breve história da agropecuária brasileira. **Embrapa Milho e Sorgo- Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2020. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1122598/1/Cap02-BreveHistoriaAgropecBR.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2022.

NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v.170, p.265-270, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>. Acesso em: 23 dez. 2022.

NAVES, R.V.; BORGES, J.D.; CHAVES, L.J. A cagaiteira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 289-596, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452002000200001>. Acesso em: 04 dez. 2022.

NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N. Características da soja. **Embrapa Soja**, artigo on-line, 2021. Disponível em: [https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/soja/pre-producao/caracteristicas-da-especie-e-relacoes-com-o-ambiente/caracteristicas-da-soja#:~:text=Desenvolvem%20vagens%20\(legumes\)%20levemente%20arqueadas,marron%2C%20ou%20amarelo%2Dpalha](https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/soja/pre-producao/caracteristicas-da-especie-e-relacoes-com-o-ambiente/caracteristicas-da-soja#:~:text=Desenvolvem%20vagens%20(legumes)%20levemente%20arqueadas,marron%2C%20ou%20amarelo%2Dpalha). Acesso em: 03 dez. 2022.

OLIVEIRA-PAIVA et al. **Bioinsumos na cultura da soja**. Microrganismos solubilizadores de fósforo e potássio na cultura da soja. Capítulo 9. 1. Ed. Brasília: Embrapa. p. 163-173, 2022.

PÉREZ, D.V.; RIGO, M.M.; MARQUES, M.C. **Recurso solo: propriedades e uso**. Fase líquida: a solução do solo. Capítulo 7. 1 Ed. Cubo. p. 222-238, 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/137583/1/2015-149.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2023.

REIS JUNIOR et al. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 32, p. 1139-1146, 2008. Acesso em: 04 dez. 2022.

REZENDE et al. Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura. **Research, Society and Development**, v. 10, n.2, 2021. Disponível em: DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12725>. Acesso em: 04 dez. 2022.

ROSOLEM et al. Acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio pelo algodoeiro sob irrigação cultivado em sistemas convencional e adensado. **R. Bras. Ci. Solo**, v 36, p. 457-466, 2012.

SEVERINO et al. Algodão - Parte 01: Caracterização e desafios tecnológicos. **Embrapa**, Brasília, p. 1-29, 2019. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1109655>. Acesso em: 28 nov. 2022.

SCARIOT, A.; RIBEIRO, J.F. Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da cagaíta. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília, 2015. Disponível em: <https://ispn.org.br/site/wp-content/uploads/2018/10/BoasPraticasCagaita.pdf>>. Acesso em: 04 abr. 2023.

SCHWYN, B.; NEILANDS, J.B. Universal chemical assay for the detection and

determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, v.160, p.47–56, 1987. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9). Acesso em 23 dez. 2022.

SILVA et al. Rizobactérias multifuncionais: utilização na agricultura. **Research, Society and Development**, [S.L.], v. 11, n.4, e3111426971, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i4.26971>. Acesso em: 28 nov. 2022.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, v. 255, n.2, p. 571-586, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>. Acesso em: 02 jan. 2023.

VIANA, G. BiomaPhos rendeu R\$ 105 milhões ao País em 2020 com aumento de produtividade de soja e milho. **Embrapa**, 2021. Disponível em: [BiomaPhos rendeu R\\$ 105 milhões ao País em 2020 com aumento de produtividade de soja e milho - Portal Embrapa](#). Acesso em: 04 dez. 2022.