

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**ARGEMIRO PEREIRA MARTINS FILHO**

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE  
CRESCIMENTO VEGETAL DA RIZOSFERA DE EUCALIPTO**

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2021**

**ARGEMIRO PEREIRA MARTINS FILHO**

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE  
CRESCIMENTO VEGETAL DA RIZOSFERA DE EUCALIPTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia para obtenção do título *Doctor Scientiae*.

Orientador: Maurício Dutra Costa

Coorientadores: Júlio César Lima Neves  
Ivo Ribeiro da Silva  
Carlos Renato dos Santos

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de  
Viçosa - Campus Viçosa**

T

M386i  
2021  
Martins Filho, Argemiro Pereira, 1986-  
Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento vegetal da rizosfera de eucalipto [recurso eletrônico] / Argemiro Pereira Martins Filho. - Viçosa, MG, 2021.

1 tese eletrônica (119 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Maurício Dutra Costa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2021.025>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Eucalipto - Nutrição. 2. Fosfato - Solubilidade. 3. Eucalipto - Crescimento - Efeito da acidez dos solos. 4. pH. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 634.973766

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto Pires CRB6 2523

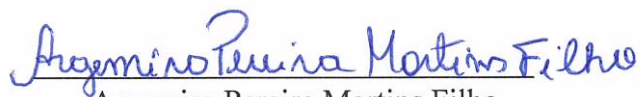
**ARGEMIRO PEREIRA MARTINS FILHO**

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE  
CRESCIMENTO VEGETAL DA RIZOSFERA DE EUCALIPTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia para obtenção do título *Doctor Scientiae*.

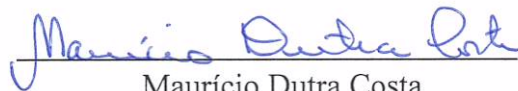
APROVADA: 29 de julho de 2021.

Assentimento:



Argemiro Pereira Martins Filho

Autor



Maurício Dutra Costa

Orientador

Aos meus pais, Argemiro Teixeira Martins e Maria Imei Pereira Martins.

À minha irmã, Almerinda Pereira Martins.

À minha avó, Maria Senira Barros Dutra.

À minha tia, Lucimei Dutra Pereira.

Aos meus familiares e amigos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser o pai criador da Terra e tudo o que nela existe, e por sempre estar com aqueles que buscam seus objetivos e caminhos baseados em seus ensinamentos.

Aos meus pais, que são meus exemplos de vida, de dignidade, de esperança, minha base, meu porto seguro. Muita coisa teria sido impossível sem vocês.

À minha irmã Almerinda e ao meu cunhado Fernando, por toda a amizade, pelo companheirismo e por compartilhar bons momentos.

À minha família, por todo o apoio, pelo carinho e por entenderem os momentos de ausência.

Aos amigos que a UFV me deu, por construírem comigo muitas histórias das quais jamais me esquecerei. “Amigos são a família que nos permitiram escolher”. Em especial, à Hellen, conterrânea que reencontrei em Viçosa. Agora, somos mais que amigos, somos irmãos para todos os momentos.

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Ecologia Microbiana para os quais seria incapaz de traduzir em palavras o quanto foram importantes para a finalização deste trabalho. Em especial Gustavo, Jaqueline, Victor, Sergio e Larissa.

Ao meu orientador, Maurício Dutra Costa, pela imensurável contribuição no desempenho deste trabalho, pela orientação, pela amizade, pela confiança e pelo incentivo que somou muito para minha formação.

Aos coorientadores Carlos Renato dos Santos, Júlio César Lima Neves e Ivo Ribeiro da Silva, por toda ajuda na elaboração e execução deste trabalho e por toda calma para tirar minhas dúvidas.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

À UFV, minha casa nos últimos 48 meses. Sentirei saudades.

Ao curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, pelo apoio prestado.

A todos os funcionários dos departamentos de Fitotecnia e Microbiologia da UFV.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e pelos bons momentos.

## **BIOGRAFIA**

Argemiro Pereira Martins Filho, natural de Belém do Pará, Brasil. Filho de Argemiro Teixeira Martins e Maria Imei Pereira Martins, nasceu em 05 de março de 1986. Formou-se em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia-(UFRA) em 2015. Durante a graduação, em 2014, realizou Curso de Lengua y Cultura Españolas na Universidad de Salamanca, USAL, Espanha. Em 2017, tornou-se mestre em Produção Agrícola pela Universidade Federal Rural de Pernambuco-(UFRPE), em Garanhuns-PE. Iniciou o doutorado na Universidade Federal de Viçosa em agosto do ano 2017, concluindo o curso em julho de 2021.

## RESUMO

MARTINS FILHO, Argemiro Pereira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento vegetal da rizosfera de eucalipto.** Orientador: Maurício Dutra Costa. Coorientadores: Júlio César Lima Neves, Ivo Ribeiro da Silva e Carlos Renato dos Santos.

O eucalipto necessita de adequada adubação para obtenção de melhor produtividade e qualidade da madeira. Em geral, os plantios de eucalipto são estabelecidos em solos de baixa fertilidade, onde as populações microbianas do solo podem contribuir significativamente para a disponibilização de nutrientes para as plantas. A associação com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) pode contribuir para o crescimento e desenvolvimento do eucalipto por meio de mecanismos promotores do crescimento vegetal. O objetivo deste trabalho foi isolar BPCP da rizosfera de eucalipto, estudar a expressão dos mecanismos de promoção de crescimento *in vitro* e testar o efeito da inoculação bacteriana no crescimento de *Eucalyptus grandis* em condições de casa de vegetação. O isolamento das potenciais BPCP foi realizado em meios próprios para o isolamento de procariotos diazotróficos (LGI, JNFB, JMV, LGIP e NFB) usando amostras de solo rizosférico de eucalipto. Após o isolamento em cultura pura, 51 isolados foram caracterizados pela técnica de coloração de Gram e identificados pelo método MIDI. Os isolados capazes de solubilizar  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  e  $\text{Al}(\text{PO}_4)$  foram testados quanto à solubilização de fosfatos de rocha (FR) de Patos, Catalão, Araxá, Crandalita, Itafós, Abaeté, Gafsa e Aipe. Todos os isolados foram testados quanto à capacidade de promoção de crescimento de *E. grandis* em casa de vegetação por 120 dias. Após o cultivo, foram avaliadas as seguintes variáveis: altura, número de folhas, matéria seca das raízes (MSR), matéria seca foliar (MSF), matéria seca do caule (MSC), matéria seca total (MST), bem com o conteúdo de N, P, K, Ca e Mg e a eficiência de uso de nutrientes (EUN). Os isolados obtidos pertencem aos gêneros *Ralstonia*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paenebacillus*, *Staphylococcus*, *Virgibacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas*. Os valores de solubilização de fosfato de cálcio variaram de 24,84 a 178,48  $\text{mg L}^{-1}$ . Para o fosfato de alumínio, os valores obtidos variaram de 7,68 a 29,68  $\text{mg L}^{-1}$ . O isolado mais eficiente solubilizou 17,86% do P do fosfato tricálcico. Os isolados LEM 10 e LEM 36 apresentaram capacidades distintas de solubilizar os diferentes tipos de FR testados. A susceptibilidade à solubilização microbiana decresceu na seguinte ordem: Gafsa > Araxá > Abaeté > Catalão > Aipe > Patos > Itafós > Crandalita. As porcentagens médias de P solubilizado variaram de 0,25%, para a Crandalita, a 25% para Gafsa. A inoculação

com alguns isolados bacterianos promoveram ganhos máximos de MSR e MST de 1.137 e 695%, respectivamente, em relação ao tratamento controle não inoculado. A inoculação com os isolados de BPCP aumentou o conteúdo e a EUN de todos os macronutrientes avaliados. No caso do P e N, na MST, os conteúdos desses nutrientes apresentaram aumentos máximos decorrentes da inoculação bacteriana de 644 e 505%, respectivamente. Já para o cálcio, os ganhos máximos corresponderam a 572,8% na MST. As análises de agrupamento e componentes principais revelaram três grupos de BPCP, sendo o isolado de melhor desempenho o *Bacillus cereus* GC subgroup B (LEM 29). Além da atividade diazotrófica, as culturas obtidas apresentaram a capacidade de solubilizar fontes de fósforo pouco reativas, constituindo ferramenta com potencial de aplicação em viveiros florestais.

**Palavras-chave:** Acidez titulável. Macronutrientes. Nutrição vegetal. pH. Solubilização de fosfato.

## ABSTRACT

MARTINS FILHO, Argemiro Pereira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria from the eucalyptus rhizosphere.** Advisor: Maurício Dutra Costa. Co-Advisors: Júlio César Lima Neves, Ivo Ribeiro da Silva and Carlos Renato dos Santos.

Eucalyptus plants require adequate fertilization to achieve better productivity and wood quality. In general, eucalyptus plantations are established in soils with low fertility, where soil microbial populations can significantly contribute to nutrient availability to plants. The association with plant growth-promoting bacteria (PGPB) can contribute to the growth and development of eucalyptus through plant growth-promoting mechanisms. The objective of this work was to isolate PGPB from the eucalyptus rhizosphere, taxonomically characterize them, study the expression of its growth promotion mechanisms *in vitro* and to test their effect on the growth of *Eucalyptus grandis* under greenhouse conditions. The isolation of potential PGPB was carried out in media suitable for cultures of diazotrophic prokaryotes (LGI, JNFB, JMV, LGIP and NFB) using rhizospheric soil samples from *E. grandis*. After isolation in pure culture, 51 isolates were characterized by the Gram stain technique and identified by MIDI. Isolates capable of solubilizing  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  and  $\text{Al}(\text{PO}_4)$  were used for the solubilization of rock phosphates (RP): Patos, Catalão, Araxá, Crandalita, Itafós Abaeté, Gafsa, and Aipe. All isolates were tested as to their capacity to promote *E. grandis* growth in the greenhouse for 120 days. After cultivation, the following variables were evaluated: height, number of leaves, root dry matter content (RDMC), leaf dry matter content (LDMC), stem dry matter (SDM), total dry matter (TDM), as well as N, P, K, Ca, and Mg content and the nutrient use efficiency (NUE). The isolates obtained belong to the genera *Ralstonia*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paenebacillus*, *Staphylococcus*, *Virgibacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. Calcium phosphate solubilization values ranged from 24.84 to 178.48 mg L<sup>-1</sup>. For aluminum phosphate, the values obtained ranged from 7.68 to 29.68 mg L<sup>-1</sup>. The most efficient isolate solubilized 17.86% of the P in the tricalcium phosphate. The isolates LEM 10 and LEM 36 presented distinct capacities to solubilize the different types of RP tested. The susceptibility to microbial solubilization decreased in the following order: Gafsa > Araxá > Abaeté > Catalão > Aipe > Patos > Itafós > Crandalita. The average percentages of solubilized P ranged from 0.25% for Crandalita to 25% for Gafsa. Inoculation with some bacterial isolates promoted maximum gains in RDMC and TDM of 1,137 and 695%, respectively, compared to the uninoculated

control treatment. Inoculation with PGPB isolates increased the content and NUE of all macronutrients evaluated. Concerning P and N, in RDMC, the contents of these nutrients showed maximum increases due to bacterial inoculation of 644 and 505%, respectively. As for calcium, the maximum gains corresponded to 572.8% in RDMC. The cluster and principal component analyzes revealed three groups of PGPB, with the isolate with the best performance being *Bacillus cereus* GC subgroup B (LEM 29). In addition to the diazotrophic activity, the cultures obtained showed the ability to solubilize less reactive phosphorus sources, constituting a tool with potential application in forest nurseries.

**Keywords:** Titratable acidity. Macronutrients. Plant nutrition. pH. Phosphate solubilization.

## Sumário

INTRODUÇÃO GERAL.....	13
-----------------------	----

CAPÍTULO 1.....	16
-----------------	----

### *REVISÃO DE LITERATURA*

1. <i>Microrganismos promotores do crescimento vegetal (MPCV)</i> .....	17
---	----

2. <i>Microrganismos fixadores de N associativos em eucalipto</i> .....	21
---	----

3. <i>Microrganismos solubilizadores de fosfatos</i> .....	23
--	----

4. <i>Fixação de N na rizosfera em sistemas agrícolas e florestais</i> .....	26
--	----

5. <i>Balanco de N nas florestas de eucalipto</i> .....	28
---	----

6. <i>Importância econômica da cultura do eucalipto</i> .....	29
---	----

7. <i>Conclusões e perspectivas</i> .....	31
---	----

<i>Referência</i> .....	32
-------------------------	----

CAPÍTULO 2.....	48
-----------------	----

### **ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL DA RIZOSFERA DE EUCALIPTO**

RESUMO .....	49
--------------	----

ABSTRACT .....	50
----------------	----

1. <b>INTRODUÇÃO</b> .....	51
----------------------------	----

2. <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	52
------------------------------------	----

2.1. <b>Localização do experimento, coleta de solo e isolamento de bactérias rizosféricas</b> .....	52
---	----

2.2. <b>Isolamento de bactérias rizosféricas diazotróficas</b> .....	53
--	----

2.3. <b>Caracterização fenotípica</b> .....	54
---	----

2.3.1. Identificação de bactérias potencialmente fixadoras de nitrogênio.....	54
---	----

2.3.2. Coloração de Gram .....	55
--------------------------------	----

2.3.3. Identificação das bactérias rizosféricas pelos perfis de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME - MIDI).....	55
---	----

2.3.4. Caracterização de bactérias solubilizadoras de fosfato .....	56
---	----

2.3.5. Caracterização da produção de sideróforos.....	56
2.3.6. Solubilização de fosfato de cálcio [Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ] e fosfato de alumínio [Al(PO <sub>4</sub> )] em meio NBRIP.....	56
2.3.7 Solubilização de FR por <i>Ralstonia pickettii</i> LEM 10 e <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> LEM 36.....	57
<b>2.4 Métodos Analíticos .....</b>	<b>57</b>
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>58</b>
<b>3.1. Isolamento e identificação de bactérias diazotróficas da rizosfera de <i>E. grandis</i>.....</b>	<b>58</b>
<b>3.2. Teste de solubilização de fosfato tricálcico e de fosfato de alumínio em meio NBRIP .....</b>	<b>58</b>
<b>3.3. Teste de produção de sideróforos .....</b>	<b>59</b>
<b>3.4. Solubilização de fosfato de cálcio (Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) por bactérias fixadoras de nitrogênio em caldo NBRIP .....</b>	<b>59</b>
<b>3.5. Solubilização de fosfato de alumínio Al(PO<sub>4</sub>) por bactérias fixadoras de nitrogênio em caldo NBRIP .....</b>	<b>59</b>
<b>3.6 Solubilização de FRs por <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> LEM 10 e <i>Ralstonia pickettiie</i> LEM 36.....</b>	<b>60</b>
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>4.1. Isolamento e caracterização de bactérias diazotróficas da rizosfera de eucalipto .....</b>	<b>60</b>
<b>4.2. Solubilização de fosfato de cálcio [Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] por bactérias fixadoras de nitrogênio em meio NBRIP .....</b>	<b>62</b>
<b>4.3. Solubilização de fosfato de alumínio [Al(PO<sub>4</sub>)] por bactérias fixadoras de nitrogênio em meio NBRIP .....</b>	<b>63</b>
<b>4.4 Solubilização de FRs por <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> LEM 10 e <i>Ralstonia pickettiie</i> LEM 36.....</b>	<b>64</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>65</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>
<b>TABELAS.....</b>	<b>74</b>
<b>CAPÍTULO 3.....</b>	<b>80</b>

**PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Eucalyptus grandis* POR BACTÉRIAS  
DIAZOTRÓFICAS RIZOSFÉRICAS**

<b>RESUMO</b> .....	<b>81</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>82</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>83</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>84</b>
<b>2.1. Localização do experimento, solo, material vegetal e isolados bacterianos</b> .....	<b>84</b>
<b>2.2. Instalação e condução do experimento</b> .....	<b>84</b>
<b>2.3. Análise de macronutrientes</b> .....	<b>85</b>
<b>2.4. Eficiência de utilização de nutrientes (EUN)</b> .....	<b>85</b>
<b>2.5. Análise estatística</b> .....	<b>86</b>
<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>86</b>
<b>3.1 Promoção do crescimento de plantas de <i>E. grandis</i></b> .....	<b>86</b>
<b>3.2 Absorção e eficiência de utilização de macronutrientes</b> .....	<b>90</b>
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>96</b>
<b>4.1 Avaliação das variáveis de crescimento da planta de eucalipto</b> .....	<b>96</b>
<b>4.2 Acúmulo de macronutrientes e a eficiência de utilização de nutrientes</b> .....	<b>97</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>100</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>100</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>100</b>
<b>TABELAS</b> .....	<b>105</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

O eucalipto é planta lenhosa com mais de 700 espécies, amplamente distribuído em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, cuja área de plantio mundial chega a 18 milhões de hectares (Cherubini e Strømman, 2011).

O eucalipto é originário da Austrália e outras ilhas da Oceania, sendo caracterizado por ser espécie com elevada plasticidade, o que a permite adaptar-se a diversas condições climáticas e tipos de solo (Bellé *et al.*, 2018).

A introdução das espécies de eucalipto na América do Sul ocorreu primeiramente no Chile em 1823, e, em 1868, chegou ao Brasil, no Rio Grande do Sul, por Frederico de Albuquerque (Vital, 2007). As plantações de espécies de eucalipto de interesse comercial podem ser conduzidas a baixo custo, representando suprimento sustentável de matéria-prima para a indústria (Cherubini e Strømman, 2011). A ampla difusão dessa cultura deve-se ao seu potencial econômico, sendo utilizada em diversos setores produtivos, a exemplo das indústrias da celulose, madeireira, siderúrgica, entre outras. O eucalipto apresenta destacada importância econômica, constituindo fonte de renda para os setores primários da economia (Souza *et al.*, 2016; Hsing *et al.*, 2016).

Dentre as diversas espécies de eucaliptos, nove têm-se destacado, *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. tereticornis*, *E. globulus*, *E. nitens*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. dunnii* e *E. pellitae* e seus híbridos, que juntos representam mais de 90% das florestas plantadas com essa florestal. Os híbridos de *E. grandis* e *E. urograndis* são particularmente os mais bem-sucedidos (Rezende *et al.*, 2014).

O Brasil possui extensas áreas de plantação de eucalipto no Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo e, sobretudo, em Minas Gerais, em áreas com solos de baixa fertilidade (Embrapa, 2003; Melloni *et al.*, 2008; Mais Floresta, 2015).

O nitrogênio é elemento essencial para as plantas e a sua deficiência pode afetar o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade das espécies vegetais (Thilakarathna *et al.*, 2016). A entrada de nitrogênio nos ecossistemas naturais pode ocorrer por deposição atmosférica, por deposição de serapilheira, pela aplicação de fertilizantes e pela fixação biológica de N. A entrada pela deposição de serapilheira envolve a queda de componentes senescentes do vegetal e posterior decomposição (Caldeira *et al.*, 2008; Vieira *et al.*, 2009; Lewis *et al.*, 2011). O processo de fixação biológica de nitrogênio é realizado por

microrganismos procarióticos, sendo essencial para o fornecimento desse elemento para as plantas. A fixação biológica de nitrogênio pode ser realizada por microrganismos de vida livre ou por aqueles que mantêm simbioses associativas ou obrigatórias com as raízes das plantas. A fixação biológica de nitrogênio associativa ocorre principalmente na rizosfera (Johnston-Monje, 2011; Berg *et al.*, 2013; Bragina *et al.*, 2013).

Os microrganismos promotores de crescimento são definidos como aqueles que se encontram em interação com plantas em suas diversas estruturas e, como resultado dessa interação bidirecional, são observados ganhos na produção de biomassa vegetal (Glick, 2012; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2018). Dentre os microrganismos promotores de crescimento, encontram-se as bactérias fixadoras de nitrogênio e as solubilizadoras de fosfato.

O fósforo (P) é nutriente essencial para todas as formas de vida, sendo, por conseguinte, importante componente de fertilizantes comerciais. Mais de 80 % das rochas fosfatadas (FR) extraídas são usados em fertilizante para a produção de alimentos (Elser *et al.*, 2013; Scholz e Wellmer, 2018). A previsão de crescimento populacional é de 9,7 bilhões de pessoas até 2050, que corresponde a aumento de 33 % da população atual. Esse crescimento populacional implicará em aumento considerável na demanda por fertilizantes visando à produção de alimentos (Desa, 2015). Estima-se que até 2050, a mineração de FR atinja o valor de 425 milhões de toneladas por ano (Desa, 2015).

Os fertilizantes fosfatados solúveis são fabricados a partir de FR pouco reativos. Em face do processo de fixação de P ao solo, nem todo o P presente nos fertilizantes solúveis serão aproveitados pelas plantas, diminuindo a eficiência agrônômica desses insumos (Sharma *et al.*, 2013). As plantas absorvem o P unicamente na forma de ortofosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) [Novais *et al.*, 2007; Sharma *et al.*, 2013]. A capacidade dos microrganismos do solo de liberar o P fixado ou de solubilizar FR pouco reativos constitui atividades microbianas importantes para o suprimento de P para as plantas. Além desses processos, os microrganismos do solo podem promover a mineralização dos reservatórios de P orgânicos, melhorando a disponibilidade do elemento para as plantas (Walpola e Yoon, 2012). O uso de microrganismos específicos que têm a capacidade de solubilizar P insolúvel no solo (Jha *et al.*, 2018) é uma alternativa sustentável que pode melhorar a eficiência de utilização de FR (Walpola e Yoon, 2012).

O nitrogênio (N) e o fósforo (P) são os elementos mais importantes para o desenvolvimento das culturas. A deficiência destes nutrientes acarreta grandes prejuízos para a agricultura (Hii *et al.*, 2020; Robles *et al.*, 2020). Dessa forma, a busca de isolados bacterianos que possam melhorar o acesso das plantas a esses nutrientes é primordial. Diante disso, o

objetivo deste trabalho foi o de isolar bactérias fixadoras de nitrogênio do solo rizosférico de eucalipto e caracterizá-las quanto à capacidade de promoção de crescimento do hospedeiro e os mecanismos envolvidos como o de solubilização de fosfato e produção de sideróforos.

**CAPÍTULO 1**  
**REVISÃO DE LITERATURA**

### ***1. Microrganismos promotores do crescimento vegetal (MPCV)***

Os MPCV são aqueles que se encontram em interação com plantas em suas diversas estruturas e que, como resultado desta interação bidirecional, promovem ganhos de biomassa vegetal em comparação às plantas controle não inoculadas (Berg, 2009; Mayer *et al.*, 2010; Glick, 2012; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2018). Dentre os MPCV, os mais estudados e mais utilizados na agricultura são as bactérias fixadoras de nitrogênio (Rascio e Rocca, 2013; Masson-Boivin e Sachs, 2017; Gopalakrishnan *et al.*, 2018).

Os MPCP têm a capacidade de induzir a promoção de crescimento mediante diferentes mecanismos, os quais são agrupados em mecanismos diretos e indiretos (Glick, 2012; Ahemad e Kibret, 2014). Os mecanismos diretos são todos aqueles que envolvem a obtenção de nutrientes, como a fixação biológica de nitrogênio, a solubilização de fosfatos e potássio, a produção de sideróforos e a produção de fitohormônios, tais como as giberelinas, auxinas, citocininas, entre outros ((Duffy *et al.*, 2005; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2018).

Dentre os mecanismos diretos de promoção de crescimento, encontra-se a fixação biológica de nitrogênio, a qual é mecanismo importante para a planta e os ecossistemas, haja vista que o nitrogênio é um dos nutrientes encontrados em maiores concentrações nos tecidos vegetais (Kant, 2017; Mitchell *et al.*, 2018). Apesar de a atmosfera constituir um dos maiores reservatórios de nitrogênio disponíveis à vida, com concentração de nitrogênio gasoso de 78%, esse reservatório não pode ser utilizado diretamente pelas plantas, necessitando da intermediação de microrganismos procarióticos que, em associação ou em vida livre, consigam transformar o N<sub>2</sub> em formas utilizáveis pela microbiota e pelas plantas (García-Fraile *et al.*, 2015; Stüeken *et al.*, 2016; Masson-Boivin e Sachs, 2017).

Os MPCP capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio são um dos grupos mais estudados e, na atualidade, são amplamente utilizados, gerando ganhos positivos na nutrição nitrogenada das culturas e diminuição da utilização de fertilizantes, principalmente em plantas da família Fabaceae, a exemplo da soja e do feijoeiro (Maikhuri *et al.*, 2016; Zimmer *et al.*, 2016; Machiani, *et al.*, 2018; Gopalakrishnan *et al.*, 2018).

A produção de sideróforos pelos MPCP permite a assimilação não reductiva do ferro, via formação de complexo quelante-metal com a função de transportar ferro até as células das raízes, onde o ferro é liberado do complexo por redução (Raza e Shen, 2010; Kumar *et al.*, 2018b). Os sideróforos são divididos em hidroxamatos, catecolatos e carboxilatos. Além disso, os MPCP produtores de sideróforos, por competirem pelo ferro, são capazes de inibir o crescimento de patógenos radiculares (Kumar *et al.*, 2018a).

As principais moléculas reguladoras do crescimento produzidas por microrganismo são o ácido indol-3-acético, o ácido abscísico, a giberelina, as citocininas e o etileno. A síntese dessas moléculas tem importante papel na comunicação da microbiota rizosférica com a planta. Alguns gêneros de MPCP, tais como *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Brevibacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, e *Serratia*, são produtores de fitormônios (Mahmood *et al.*, 2014; Spence e Bais, 2015).

A auxina é um hormônio vegetal que tem como principal efeito o alongamento celular. O principal local de produção da auxina é no meristema caulinar. A auxina pode ser encontrada em suas formas naturais, a exemplo do ácido indol-3-acético (AIA), como em formas sintéticas, tais como o 2,4-D e 4-Cl-AIA (Kasahara, 2016). O AIA é a auxina de ocorrência natural mais estudada e seu mecanismo regulador nas plantas já foi bem elucidado, desempenhando papéis importantes na regulação do desenvolvimento das plantas e nas respostas às condições do meio, incluindo a embriogênese, a formação de órgãos, a dominância apical, o fototropismo, o alongamento e a diferenciação celular (Ljung, 2013). Essas funções dependem da concentração celular de auxina em tecidos específicos, a qual é determinada pela biossíntese, inativação e transporte da molécula (Kasahara, 2016).

O ácido abscísico (ABA) é fitormônio amplamente conhecido por exibir uma série de funções na planta, incluindo a germinação de sementes, o balanço hídrico e sinalização de estresses abióticos (Sah *et al.*, 2016). Durante os estresses hídrico e osmótico, o ABA desempenha papel importante na regulação do fechamento estomático, necessário para limitar a perda de água pela transpiração nas folhas, na regulação da degradação do amido foliar, modulação e arquitetura da raiz e indução de enzimas responsáveis pela síntese de osmoprotetores (Villalobos-González *et al.*, 2016; Vighi *et al.*, 2019).

As giberelinas (GAs) constituem outro grupo de fitormônios que afetam vários aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas. Os GAs, frequentemente, trabalham sinergicamente com auxinas para promover o alongamento de órgãos, incluindo o caule e o hipocótilo em plantas sombreadas (Du *et al.*, 2018). A giberelina desempenha papel vital na germinação de sementes, crescimento, floração e frutificação de plantas (Radhakrishnan e Lee, 2016).

Um outro hormônio que controla o crescimento vegetal é a citocinina, que atua na citocinese/divisão celular. Trabalhos recentes, revelam crescente papel da citocinina na regulação das respostas a estresses abióticos e bióticos em plantas (Zwack *et al.*, 2013). Em estudos anteriores com a utilização da citocinina, verificou-se que os componentes de

sinalização atuam como reguladores negativos na planta para tolerância ao sal e à seca (Huang *et al.*, 2018), e desempenham papel positivo nas interações de frio, estresse térmico e interações planta-microrganismo (Jeon e Kim, 2013).

O etileno, um dos hormônios mais bem caracterizados em termos de biossíntese e sinalização, vem chamando a atenção dos pesquisadores por sua capacidade de promover a senescência e abscisão das folhas. Esse hormônio gasoso também é capaz de promover ou inibir o crescimento das plantas, dependendo da espécie e do tipo de célula, e sua produção é aumentada sob estresses ambientais (Wang *et al.*, 2013). O etileno foi encontrado em uma ampla gama de plantas até agora, incluindo angiospermas, gimnospermas, samambaias e até musgos, agindo como agente regulador do crescimento e do desenvolvimento, além de estar relacionado com uma série de processos biológicos, a exemplo da germinação, da inibição do alongamento das raízes, da senescência de flores e folhas e do amadurecimento de frutos (Mattoo e White, 2018).

Depois do nitrogênio, outro importante macronutriente para as plantas é o fósforo, que corresponde ao segundo nutriente mais acumulado nos tecidos vegetais (Nesme *et al.*, 2018). Alguns MPCP possuem a capacidade de promover o crescimento vegetal mediante mecanismos de disponibilização de P no solo, com a transformação de formas pouco reativas do elemento em formas solúveis aproveitáveis pelas culturas (Sharma *et al.*, 2013). Do ponto de vista da sustentabilidade, estes mecanismos utilizados pelos microrganismos podem ter importante impacto na diminuição da utilização de fertilizantes fosfatado no setor agrícola e florestal, onde grandes quantidades desse nutriente são utilizadas para garantir a produtividade (Koppelaar e Weikard, 2013; Pearce e Chertow, 2017; Nesme *et al.*, 2018).

Os mecanismos utilizados pelos MPCP para a solubilização de fósforo variam dependendo da forma em que o P é encontrado no solo. As formas inorgânicas podem ser solubilizadas mediante a liberação de substâncias com a capacidade de dissolver minerais, como ácidos orgânicos, sideróforos, prótons ou íons hidroxila. Estas substâncias têm a capacidade de alterar o equilíbrio químico de solubilização dos minerais fosfatados, liberando o ortofosfato em solução (Oliveira *et al.*, 2009; Ahemad e Kibret, 2014; AlorI *et al.*, 2017).

A solubilização do fósforo orgânico é processo principalmente biológico, onde os microrganismos têm papel chave, já que são os responsáveis pela produção e liberação de enzimas extracelulares com a capacidade de mineralizar o fósforo, a exemplo das fosfatases e fitases (Mcgill e Cole, 1981; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2018).

As fosfatases são enzimas que catalisam a hidrólise de ampla variedade de compostos ésteres de fosfato, liberando fosfato inorgânico (Pi) no meio. Dependendo do pH ideal para o

mecanismo catalítico, as fosfatases são classificadas em duas categorias distintas: fosfatases alcalinas (ALP) e fosfatase ácidas (ACP) (Dick *et al.*, 2011). Nas plantas, as ACP estão envolvidas em várias fases de germinação, crescimento, desenvolvimento e sobrevivência, dentre outras atividades (Tran *et al.*, 2010).

A produção de fosfatases ácidas por plantas, bactérias e fungos está bem estabelecida, enquanto as fosfatases alcalinas originam-se, principalmente, de microrganismos do solo, particularmente de bactérias (Spohn e Kuzyakov, 2013). As fosfatases alcalinas são hidrolases que desempenha papéis importantes no metabolismo do fósforo. São encontradas em abundância em solos alcalinos (Pabis e Kamerlin, 2016). As fosfatase alcalinas microbianas estão presentes no espaço periplásmico das células. As populações bacterianas presentes na rizosfera vegetal convertem o fósforo orgânico na forma inorgânica prontamente disponível, solubilizando compostos orgânicos complexos com a ajuda das fosfatases (Chen *et al.*, 2006).

O papel das fosfatases na mobilização de P é significativo para melhorar a disponibilidade de P para plantas em solos de áreas úmidas. As fosfatases podem aumentar a hidrólise dos ésteres anidridos de ácido fosfórico promovendo a liberação de P para as plantas (Chen *et al.*, 2012). Em geral, as atividades das fosfatases da rizosfera são mais elevadas do que as enzimas fosfatases do solo não rizosférico (Chen *et al.*, 2012). Alguns estudos sugerem que as fosfatases regulam a renovação do P orgânico, melhorando a disponibilidade de P no solo (Zhu *et al.*, 2017).

As fitases são amplamente distribuídas na natureza. São também denominadas fosfomonoesterases, com capacidade de hidrolisar o fitato em fosfatos e fosfatos inorgânicos (Türk *et al.*, 2000). As fitases têm papel potencial na melhoria da biodisponibilidade de fósforo no solo. Alguns grupos microbianos podem produzir diferentes classes de fitases, tais como bactérias, leveduras e fungos (Coban e Demirci, 2014).

Os mecanismos indiretos não estão diretamente envolvidos no crescimento das plantas, mas reduzem o estresse das plantas causado por fatores bióticos e abióticos (Manoj *et al.*, 2020). A síntese de compostos antimicrobianos e a indução de resistência sistêmica por microrganismos da rizosfera são considerados mecanismos indiretos de promoção do crescimento usados no controle biológico de fitopatógenos (Figueiredo *et al.*, 2016). Também, são considerados mecanismos indiretos todos aqueles que conferem tolerância frente ao estresse, como a atividade da enzima ACC desaminase, a síntese de polissacarídeos e enzimas anticongelantes, entre outros (Arzanesh *et al.*, 2011; Etesami e Maheshwari, 2018; Kumar e Verma, 2018).

Existem diversas evidências sobre o potencial de microrganismos na rizosfera de efetuarem o controle de microrganismos fitopatógenos, protegendo as plantas dos danos causados pela doença (Glick, 2012). O controle de fitopatógenos pode ser efetuado pela competição por recursos do meio, pela síntese de substâncias antimicrobianas ou enzimas, tais como as quitinases, as glucanases e as proteases (Liu *et al.*, 2017; Sharma *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018). Existem evidências de que a presença de MPCP nas raízes pode induzir a resistência sistêmica na planta a fitopatógenos por meio da indução de genes relacionados a defesas morfológicas e metabólicas da planta (GHazalibiglar *et al.*, 2016; Gustavo *et al.*, 2016).

Alguns mecanismos são menos estudados e correspondem àqueles nos quais os MPCP entregam vantagens adaptativas às culturas frente a condições de estresse. Por exemplo, a formação de biofilmes microbianos nas raízes permite melhor desempenho ou menos danos frente ao estresse hídrico (Liu *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2019). A síntese de proteínas anticongelantes pelos MPCP constitui outro mecanismo de proteção dos tecidos vegetais contra baixas temperaturas (Liu *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2019).

## **2. Microrganismos fixadores de N associativos em eucalipto**

Vários processos importantes para ciclagem de nutrientes são conduzidos por microrganismos do solo, a exemplo da fixação biológica de nitrogênio atmosférico, realizado por microrganismos diazotróficos (Marchetti e Barp, 2016). A fixação biológica de nitrogênio é de grande importância por ser o único processo biológico que permite a obtenção desse nutriente a partir do N<sub>2</sub> atmosférico, transformando o elemento em N-amoniacal utilizável pela planta (NIU *et al.*, 2016).

Os microrganismos diazotróficos podem ser de vida livre, com ampla ocorrência em todos os tipos de solo e nas águas doces e salgadas; associativos, sendo encontrados na rizosfera, no interior dos tecidos das plantas; ou ainda simbióticos, vivendo em íntima associação com plantas leguminosas e não-leguminosas (Marchetti e Barp, 2016; Pajares e Bohannan, 2016). As bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas podem ser divididas em dois grupos: organismos endofíticos obrigatórios e endofíticos facultativos (Bárbaro-Torneli *et al.*, 2018). No grupo dos endofíticos obrigatórios encontram-se as espécies *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans* (Parihar *et al.*, 2018). Entre os endofíticos facultativos, estão microrganismos do gênero *Azospirillum*, sendo eles: *A. lipoferum*, *A. brasiliense*, *A. halopraeferans* e *A. irakense* (Reinhold *et al.*, 1987, Khammas *et al.*, 1989; Bulegon *et al.*, 2016).

Em síntese, os microrganismos fixadores de nitrogênio sendo eles de vida livre ou associados a espécies vegetais, auxiliam na fixação de nitrogênio na qual o nitrogênio atmosférico é transformado em amônia, contribuindo para o crescimento e desenvolvimento de plantas e podendo afetar direta ou indiretamente a produtividade das culturas (Bourscheidt *et al.*, 2019). Além de apresentar importância econômica e ecológica, a fixação biológica de nitrogênio (FBN), dispensa a adubação nitrogenada sem causar perda de produtividade (Bulegon *et al.*, 2016). Diante disso, a associação de bactérias diazotróficas e as plantas, contribuem para o seu crescimento e desenvolvimento das mesmas. O eucalipto apresenta rápido crescimento necessitando de altas disponibilidades de nutrientes do solo, principalmente o nitrogênio, que é absorvido e acumulado em grandes quantidades (Miguel *et al.*, 2016). O eucalipto, por estar presente geralmente em solos ácidos e que possuem baixo potencial de nitrificação, depende de microrganismos que atuam como reservatórios ativos de nitrogênio, controlando a disponibilidade de N por meio de processos de imobilização e mineralização (Gama-Rodrigues *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2014). O N que é absorvido pelas plantas no processo de fixação biológica de nitrogênio, sofre várias transformações para que se torne disponível.

O complexo da nitrogenase consiste em duas enzimas distintas: a dinitrogenase redutase e a dinitrogenase. A dinitrogenase redutase contém grupos 4Fe – 4S que se ligam ao ATP e doam elétrons para a dinitrogenase. A dinitrogenase é uma proteína FeMo tetramérica, formada por dois agrupamentos, Mo – Fe – S e Fe – S, que se ligam ao N<sub>2</sub> (Rascio e Rocca, 2013). Essas enzimas são sensíveis ao O<sub>2</sub>, ocorrendo a inibição da catálise da redução do dinitrogênio (N<sub>2</sub>) em amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) rapidamente (Ritchie e Raina, 2016). A nitrogenase requer o molibdênio (Mo) para formação do complexo Mo-N<sub>2</sub>ase. Duas nitrogenases alternativas já foram identificadas em bactérias dos gêneros *Azotobacter* e *Rhodospseudomonas* e em algumas cianobactérias. Esses microrganismos também sintetizam nitrogenase com vanádio (V-N<sub>2</sub>ase) e nitrogenase que requer apenas Fe (Fe-N<sub>2</sub>ase) (Newton, 2007). As nitrogenases alternativas podem servir como vias para fixação de N<sub>2</sub> em condições deficientes em Mo.

Na redução de nitrogênio pela Mo-N<sub>2</sub>ase, a dinitrogenase redutase oxidada recebe elétron da ferredoxina ou flavodoxina reduzidas, e se liga a dois ATP (Song *et al.*, 2019). A proteína Fe reduzida doa elétron para dinitrogenase oxidada com hidrólise de ambas as moléculas de ATP, e a proteína FeMo (dinitrogenase) doa elétrons para o N<sub>2</sub> ligado ao MoFe (HU e RIBBE, 2013; EINSLE, 2014). Nesse processo, ocorrem seis eventos sequenciais para reduzir o N<sub>2</sub> a 2NH<sub>3</sub>, com a hidrólise de 2ATP para cada elétron fluindo para a dinitrogenase. No entanto, a dinitrogenase também reduz prótons na célula. Para cada N<sub>2</sub> reduzido a 2NH<sub>3</sub>, dois H<sup>+</sup> são reduzidos a H<sub>2</sub>, com adição de dois elétrons e hidrólise de 4ATP (Rascio e Rocca,

2013). Assim, a reação geral catalisada pelo complexo da nitrogenase nos organismos diazotróficos é  $N_2 + 8e^- + 8H^+ + 16ATP \rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16ADP + 16Pi$ .

Muitos microrganismos fixadores de  $N_2$  possuem uma hidrogenase que reoxida  $H_2$  a  $2H^+$  e  $2e^-$ . Assim, a enzima aumenta significativamente a eficiência da fixação de  $N_2$ , pois leva à recuperação do ATP pelo fluxo de elétrons, à proteção da nitrogenase pela redução do  $O_2$  a  $H_2O$  e à manutenção de atividade da nitrogenase pela remoção de  $H_2$ , inibitório à atividade do complexo (Rascio e Rocca, 2013).

O ATP para a redução do  $N_2$  é obtido de diferentes estratégias metabólicas, a depender do tipo de microorganismo diazotrófico. Nas bactérias fototróficas anaeróbicas, o ATP provém da fotossíntese; em organismos heterotróficos anaeróbicos, o ATP é obtido a partir das fermentações que, devido à baixa eficiência oxidativa, leva ao maior consumo de substratos orgânicos (Rascio e Rocca, 2013). Os microrganismos aeróbicos obtêm ATP de processos respiratórios mais eficientes. No entanto, nesse caso, é necessário que haja mecanismos de proteção da nitrogenase contra os efeitos deletérios do  $O_2$  (Rascio e Rocca, 2013).

### ***3. Microrganismos solubilizadores de fosfatos***

O P é nutriente essencial para as plantas, desempenhando papel importante nas atividades fisiológicas, tais como a fotossíntese, as reações de transferência de energia, a síntese macromolecular, a respiração, o crescimento, a produtividade e o desenvolvimento do sistema radicular. A deficiência desse macronutriente inibe significativamente o crescimento, resultando em plantas atrofiadas e nanicas (Sharma *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2013; Hii *et al.*, 2020).

Mais de 80% das rochas fosfatadas (FR) extraídas no mundo são utilizadas na fabricação de fertilizantes fosfatados solúveis para a produção de alimentos (Elser *et al.*, 2013; Scholz e Wellmer, 2018). Dos 80% de FR extraídos, apenas 5% a 10% são absorvidos pelos seres humanos por meio da alimentação. O restante é perdido ao longo da cadeia de suprimentos, desde o FR extraído até os alimentos para consumo (Jacobs *et al.*, 2017). Grande parte da perda de P no ciclo do fósforo termina nos corpos d'água naturais, causando a eutrofização em função de aporte de estrume animal e à aplicação excessiva de fertilizantes (Alvarez *et al.*, 2018). A eutrofização causa sérios danos ambientais e diminuição da biodiversidade nos corpos d'água impactados. Além disso, este P é perdido para os oceanos, sendo impossível recuperá-lo economicamente (Mayer *et al.*, 2016; Mew *et al.*, 2018). Portanto, o P é constantemente substituído por FR recém-extraído, o que aumenta ainda mais a poluição ambiental através dos processos de mineração.

Com o aumento da população mundial, há também crescente demanda por fertilizantes fosfatados para a produção de alimentos. De 1913 a 2014, a população mundial aumentou de 1,79 bilhão para 7,27 bilhões enquanto a extração de FR aumentou, no mesmo período, de 3,4 para 245 milhões de toneladas (Mew *et al.*, 2018). As estimativas da população mundial para 2050 preveem o total de 9,7 bilhões de indivíduos, implicando em projeção anual de mineração de FR de 425 milhões de toneladas (Desa, 2015). Em face da baixa eficiência dos adubos fosfatados, a previsão é de que as rochas fosfáticas, usadas como matéria prima para fabricação desses insumos, se esgotarão nos próximos 50 a 200 anos (Li *et al.*, 2018).

Frente à crescente demanda por fertilizantes solúveis na agricultura e o custo elevado desses insumos, a alternativa de utilização direta de fosfatos de rocha tem sido aventada (Goenadi e Sugiarto, 2000; Kumari e Phogat, 2008; Shen *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2013; Jha *et al.*, 2018). Os FRs apresentam baixa reatividade, sendo pouco eficientes agronomicamente quando aplicados ao solo (Sharma *et al.*, 2013). As plantas absorvem o P unicamente na forma de ortofosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ), (Novais *et al.*, 2007; Sharma *et al.*, 2013). Para que haja a solubilização dos FR em formas de P absorvíveis pelas plantas, o uso de microrganismos solubilizadores de fosfatos tem emergido como tecnologia promissora (Walpola e Yoon, 2012; Massenssini *et al.* 2016; Jha *et al.*, 2018)

Os microrganismos são parte integrante do ciclo de fósforo no solo, participando dos processos de transformação nutriente. Muitos microrganismos do solo são capazes de promover a liberação de ortofosfato a partir de fontes orgânicas e inorgânicas do elemento por meio dos processos de mineralização e solubilização, respectivamente (Hameed *et al.*, 2008; Jha *et al.*, 2018).

O primeiro estudo sobre a solubilização microbiana de fosfatos inorgânicos pouco reativos foi publicado por Pikovskaya em 1948, iniciando progressão significativa do conhecimento sobre a solubilização de FR (Pikovskaya, 1948; Prabhu *et al.*, 2019). Os microrganismos solubilizadores de fosfato amplamente distribuídos na natureza, englobando bactérias, actinobactérias e fungos. Os gêneros mais comuns de bactérias solubilizadores de fosfato incluem *Bacillus* e *Pseudomonas*. Entre os fungos solubilizadores de fosfato, os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os mais comuns, seguidos por *Trichoderma* e *Rhizoctonia* (Zaidi *et al.*, 2009; Awais *et al.*, 2017; Prabhu *et al.*, 2019). Diferentes gêneros de fungos, tais como *Aspergillus* e *Colletotrichum*, e de bactérias, a exemplo de *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Pochonia*, têm sido estudados como solubilizadores de fosfato e, na atualidade, isolados eficientes no processo são utilizados na produção agrícola e florestal. (Oliveira *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2013; Hiruma *et al.*, 2016; Sarabia *et al.*, 2017; Suelen *et al.*, 2018).

Entre os microrganismos solubilizadores de fosfato, as bactérias gram-negativas são as mais comuns e eficientes em solubilizar fosfatos por meio da oxidação extracelular de glicose a ácido glucônico via a quinoproteína glicose desidrogenase. Entretanto, os fungos têm maior capacidade de solubilização do que bactérias em função de serem eficientes produtores de ácidos orgânicos. Muitas espécies fúngicas, a exemplo daquelas pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, têm se destacado na solubilização de FR por meio da abundante produção de ácidos orgânicos (Nahas, 1996; Goldstein *et al.*, 1999; Silva Filho *et al.*, 2002; Mendes *et al.*, 2014; Massenssini *et al.* 2015).

Nos microrganismos do solo, existem várias bactérias que possuem o potencial de solubilização de P, sendo representadas pelos gêneros e espécies diversas, tais como *Alcaligenes* sp., *Aerobacter aerogenes*, *Achromobacter* sp., *Actinomadura oligospora*, *Agrobacterium* sp., *Azospirillum brasilense*, *Bacillus* sp., *Bacillus circulans*, *B. cereus*, *B. fusiformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. polymyxa*, *B. coagulans*, *B. chitinolyticus*, *B. subtilis*, *Bradyrhizobium* sp., *Brevibacterium* sp., *Citrobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *P. putida*, *P. striata*, *P. fluorescens*, *P. calcis*, *Flavobacterium* sp., *Nitrosomonas* sp., *Erwinia* sp., *Micrococcus* sp., *Escherichia intermedia*, *Enterobacter asburiae*, *Serratia phosphoticum*, *Nitrobacter* sp., *Thiobacillus ferrooxidans*, *T. thiooxidans*, *Rhizobium meliloti*, *Xanthomonas* sp. (Shrivastava *et al.*, 2018).

O uso de microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) eficientes abre novo horizonte para a melhor produtividade das culturas, além de manter a saúde do solo. A viabilidade e a sustentabilidade da tecnologia de MSF dependem em grande parte do desenvolvimento e distribuição de inoculantes de boa qualidade para as comunidades agrícolas (Sharma *et al.*, 2013).

A solubilização de P pode ser aprimorada ainda mais com a otimização de variáveis, tais como período de incubação, temperatura, pH, concentração de glicose e sulfato de amônio onde foram considerados os fatores mais significativos que afetam a atividade de solubilização do fósforo (Jha *et al.*, 2018).

Os fosfatos de Fe e Al são as formas menos reativas do que o fosfato de Ca. Por sua vez, o fosfato de Araxá é menos reativo do que o fosfato de Catalão. Logo, subentende-se que os microrganismos presentes no solo são capazes de disponibilizar P a partir de fontes pouco reativas de fosfato (Mendes *et al.*, 2014; Massenssini *et al.* 2015).

Segundo os estudos realizados por Massenssini *et al.* (2015), a solubilização de fosfatos inorgânicos naturais pela microbiota do solo varia em relação à posição topográfica, sendo positivamente influenciada pelo teor de matéria orgânica. A microbiota do solo é capaz de

utilizar diferentes mecanismos na solubilização de fontes insolúveis de fosfato, sendo a redução do pH a principal estratégia para solubilizar os fosfatos de cálcio e alumínio (Massenssini *et al.*, 2015).

Segundo Mendes *et al.* (2014), os mecanismos de solubilização de P não apenas diferem entre microrganismo, mas, também, dependem das fontes de P adicionadas, sendo a acidificação mecanismo eficaz para a solubilização de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Já para o  $\text{AlPO}_4$  e  $\text{FePO}_4$  e FRs, a produção de ácidos orgânicos é, provavelmente, o principal mecanismo de solubilização de P (Mendes *et al.*, 2014).

#### **4. Fixação de N na rizosfera em sistemas agrícolas e florestais**

A produção agrícola e florestal vem enfrentando grandes desafios nas décadas iniciais do século XXI em face do crescente aumento da população mundial, estimada em 7,2 bilhões de indivíduos em 2018 (Pimentel e Burgess, 2018). Com o aumento da população, surge a necessidade premente de obtenção de aumentos na produção de alimentos, madeira, biodiesel, entre outros produtos (Ibarrola-Rivas *et al.*, 2017). A maioria dos solos agrícolas e florestais apresenta baixa fertilidade, tornando necessário o aporte de quantidades significativas de fertilizantes para mitigar as deficiências nutricionais decorrentes (Lima e Souza, 2014). Dentre os nutrientes requeridos pelas plantas para o desenvolvimento e o crescimento, o nitrogênio é aquele demandado em maiores quantidades. Esse elemento faz parte da estrutura química de proteínas importantes no processo fotossintético tendo, assim, relação direta com a síntese de clorofila e com a produção de biomassa (Marchetti e Barp, 2016). As bactérias diazotróficas penetram nas raízes das plantas por entre as células epidérmicas, através dos pelos radiculares ou por vetores, a exemplo dos fungos micorrízicos arbusculares (Guimarães *et al.*, 2017). A rizosferacorresponde à região do solo que sofre a influência direta das raízes das plantas em suas propriedades químicas, físicas e biológicas (Chequer *et al.*, 2011; Philippot *et al.*, 2013). Nela, as raízes das plantas estabelecem relações com microrganismos do solo, a exemplo das bactérias diazotróficas que são consideradas microrganismos promotores do crescimento vegetal. As bactérias diazotróficas são consideradas promotoras de crescimento vegetal por melhorarem a nutrição mineral da planta, contribuir com fitormônios, acelerarem os processos de mineralização de nutrientes, solubilizarem P e atuarem no controle de fitopatógenos, dentre outras atividades (Brasil *et al.*, 2016) que res.

O processo de fixação biológica de nitrogênio é de grande relevância para a maioria das plantas uma vez que não conseguem usar nitrogênio na forma gasosa de  $\text{N}_2$ . Porém, quando associadas a bactérias diazotróficas, as plantas hospedeiras passam a receber desses

microrganismos fixadores o nitrogênio de que necessitam, tendo atendida a demanda por quantidades satisfatórias do nutriente (Okumura *et al.*, 2011; Bárbaro-Torneli *et al.*, 2017).

O fornecimento de nitrogênio garante o bom desenvolvimento da planta, com sistema radicular que permite buscar água e nutrientes em pontos mais distantes no solo (Pedro Júnior, 2015). Diante disso, o estudo das interações entre as raízes das plantas e bactérias associativas fixadoras de nitrogênio tem sido alvo de muitas pesquisas visando elucidar a ocorrência de fixação de N<sub>2</sub>, a promoção de crescimento vegetal, bem como os efeitos dessa atividade sobre outras propriedades do solo (Moreira *et al.*, 2010).

As bactérias endofíticas estão presentes em menores densidades populacionais no espaço interno dos tecidos vegetais. Além de contribuírem para o desenvolvimento radicular e a fixação biológica de nitrogênio em cultura agrícolas e florestais, esses microrganismos promovem aumentos de produtividade pela produção de fitohormônios, a exemplo das auxinas, giberilinas, citocininas, ácido abscísico e etileno (Moreira *et al.*, 2010). A fixação de nitrogênio por bactérias endofíticas em gramíneas é da ordem de 25 a 40 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, equivalendo a 17% do total da demanda da planta. Levando-se em consideração as quantidades significativas de carboidratos supridas pelas gramíneas, como o milho e a cana-de-açúcar, para bactérias diazotróficas, a FBN realizada em associação com essas plantas pode ser considerada baixa. No entanto, ainda assim o processo contribuirá para a diminuição considerável dos gastos com manejo cultural (Moreira *et al.*, 2010).

A contribuição da FBN realizada por bactérias diazotróficas endofíticas em comparação com bactérias simbióticas é a mesma, haja vista a área plantada com cereais e gramíneas no mundo. Pastagens e cana-de-açúcar apresentam alta produtividade mesmo sem o uso de fertilizantes nitrogenados, evidenciando o papel da FBN realizada por microrganismos endofíticos (Moreira *et al.*, 2010).

A FBN em cana-de-açúcar alavancou as pesquisas sobre a produção em larga escala de inoculantes de bactérias diazotróficas. No entanto, resultados de ensaios conduzidos em diversas regiões do país evidenciaram poucos benefícios da FBN em relação à produtividade dessa cultura (Pereira *et al.*, 2013). Algumas pesquisas relatam a ocorrência de aumentos significativos na produção de biomassa, bem como na produtividade dos colmos, atribuídos aos efeitos pela inoculação com bactérias diazotróficas (Schultz *et al.*, 2014; Gírio *et al.*, 2015).

A cana-de-açúcar é exigente quanto à fertilidade do solo, mas apresenta intolerância a salinidade. Isolados de bactérias diazotróficas são utilizados tanto para realizar a FBN como também para conferir à cana-de-açúcar maior tolerância à salinidade (Mishra *et al.*, 2011).

As gramíneas como milho (*Zea mays*), trigo (*Triticum aestivum* L.), arroz (*Oriza sativa*) e braquiárias (*Brachiaria* spp.) também são beneficiadas pela associação com as bactérias fixadoras de nitrogênio. A inoculação dessas plantas tem por finalidade suprir não somente a necessidade nutricional da planta, mas conjuntamente, reduzir as doses e aplicações de fertilizantes nitrogenados, levando diretamente à redução de gastos e à promoção do desenvolvimento e do crescimento dessas gramíneas (Moreira *et al.*, 2014).

As gramíneas apresentam produtividade limitada em função da deficiência de N, sendo este nutriente o responsável pela determinação do número de afixos ou perfilhos, formação dos nós e alongamento do colmo. A FBN é vista como alternativa para suplementar os aportes de N exigidos pela planta e contribuir para a redução dos gastos até ao ponto em que os fertilizantes nitrogenados sejam dispensados (Bergamaschi *et al.*, 2007, Hungria *et al.*, 2010).

Culturas como a oliveira (*Olea europaea* L.) e o eucalipto (*Eucalyptus* spp.), por terem alto valor econômico, têm sido recentemente estudadas em relação à FBN (Vitorazi-Filho *et al.*, 2012). O uso de bactérias promotoras de crescimento em espécies silvícolas tem por finalidade promover a FBN, uma vez que tais espécies apresentam poucas respostas à adubação.

##### **5. Balanço de N nas florestas de eucalipto**

O nitrogênio é elemento essencial para as plantas e sua deficiência pode afetar o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade das espécies vegetais. A falta deste elemento limita a produtividade primária, afetando toda a cadeia produtiva e contribuindo para a redução da diversidade das populações vegetais (Thilakarathna *et al.*, 2016). A entrada de nitrogênio nos ecossistemas naturais pode ocorrer por deposição atmosférica, por deposição de serapilheira, pela aplicação de fertilizantes e pela fixação biológica de N. A entrada pela deposição de serapilheira envolve a queda de componentes senescentes do vegetal e sua posterior decomposição (Caldeira *et al.*, 2008; Vieira *et al.*, 2009; Lewis *et al.*, 2011). O processo de fixação biológica de nitrogênio é realizado por microrganismos procarióticos. A fixação biológica de nitrogênio pode ser realizada por microrganismos de vida livre ou por aqueles que mantêm simbioses associativas ou obrigatórias com as raízes das plantas. A fixação biológica de nitrogênio associativa ocorre principalmente na rizosfera, sendo essencial para o fornecimento desse elemento para as plantas (Johnston-MonjE, 2011; Berg *et al.*, 2013; Bragina *et al.*, 2013).

O fluxo de nitrogênio e outros nutrientes nas florestas são importantes para conservação de todo ecossistema (Pegoraro *et al.*, 2016). A ciclagem de nutrientes é essencial para o funcionamento do ecossistema florestal e se dá por meio da produção de serapilheira, que é o

meio mais importante de transferência de nutrientes essenciais, como o nitrogênio, da vegetação para o solo (Barbosa *et al.*, 2017). Esse processo ocorre pela queda dos componentes senescentes de partes do vegetal e sua posterior decomposição (Carvalho *et al.*, 2017). Outra forma de entrada de N no ecossistema florestal dá-se pela adição de fertilizantes nitrogenados durante o plantio (Carvalho *et al.*, 2017).

O balanço de nutrientes nos ecossistemas florestais corresponde à diferença entre as quantidades dos nutrientes que entram no sistema menos as quantidades que são perdidas por diversos processos, tais como erosão, lixiviação ou volatilização, dentre outros (Zuliani *et al.*, 2016; Johnson e Turner, 2019). Nas florestas plantadas com eucalipto, a quantidade de nutrientes presentes no solo e a extraída durante a exploração florestal é importante na definição do balanço de nutrientes (Souza *et al.*, 2016). Em geral, os plantios de eucalipto são estabelecidos em solos de baixa fertilidade, onde as populações microbianas serão responsáveis por disponibilizar o N a partir de minerais primários e secundários do solo ou da matéria orgânica. Em geral, nessas condições, os microrganismos atuam na ciclagem do nutriente, promovendo o crescimento e o desenvolvimento das plantas por meio da fixação biológica (Silva *et al.*, 2015).

A eficiência de utilização de nutrientes depende da espécie vegetal, da idade, do manejo e das condições edafoclimáticas (Versini *et al.*, 2016). De modo geral, as plantações de eucalipto devolvem nutrientes ao solo por meio da serapilheira (Johnson e Turner, 2019). Para cada tonelada de madeira gerada, 0,3 a 0,35 tonelada de serapilheira é depositada, devolvendo a maior parte dos nutrientes contidos nas árvores. O retorno do nitrogênio ao solo é estimado em cerca de 60 a 70% do total do elemento absorvido pela planta (Vital, 2007). O acúmulo de nitrogênio na planta ocorre nas raízes, galhos, cascas e folhas, sendo estas últimas os maiores reservatórios de nitrogênio da serapilheira (Embrapa, 2016).

### **6. Importância econômica da cultura do eucalipto**

O eucalipto pertence à família *Myrtaceae* e ao gênero *Eucalyptus*, o qual inclui, aproximadamente, 730 espécies catalogadas botanicamente (Santarosa *et al.*, 2014). Apesar do elevado número de espécies conhecidas, apenas 20 são utilizadas para fins comerciais em todo o mundo (Santarosa *et al.*, 2014). O eucalipto tem como centro de origem a Austrália e outras ilhas da Oceania, sendo caracterizado por ser espécie amplamente difundida no globo terrestre e com elevada plasticidade, o que o capacita a adaptar-se a diversas condições climáticas e tipos de solo (Bellé *et al.*, 2018).

A ampla difusão dessa cultura no mundo deve-se ao fato de possuir inúmeras aplicações na indústria moveleira e de carvão, na construção civil, na produção de mel, óleos essenciais, mourões de cerca, postes, quebra ventos e, principalmente, na indústria de celulose para confecção de papel (Bacha e Barros, 2004; Brito, 2007; Hsing *et al.*, 2016). A cultura também tem sido muito estudada com o objetivo de se identificar e caracterizar metabólitos da planta que apresentem propriedades antifúngicas, antibacterianas e antioxidantes (Bhuyan *et al.*, 2017; González *et al.*, 2017; España *et al.*, 2017). O eucalipto tem sido usado também na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados (Luo *et al.*, 2017).

O Brasil possui extensas áreas plantadas com eucalipto nos Estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo e, sobretudo, no Estado de Minas Gerais, em áreas com solos de baixa fertilidade (Embrapa, 2003; Melloni *et al.*, 2008; Mais Floresta, 2015). As florestas plantadas têm como objetivo garantir matéria-prima para as indústrias de papel e celulose e siderúrgicas e para a fabricação de compensados e lâminas, bem como chapas de fibra e MDF (Embrapa, 2016; Mendes *et al.*, 2019). Aliado ao fato de apresentar rápido crescimento, outras características favorecem o cultivo do eucalipto, a saber, a sua elevada capacidade produtiva e adaptabilidade em diversos ambientes, a grande diversidade de espécies e híbridos, tornando possível a sua utilização em diversos segmentos do setor florestal, e o fato de representar matriz energética renovável segura (Santos *et al.*, 2016; Garlet *et al.*, 2016).

Em face dessas características, os plantios de eucalipto estão em expansão no Brasil, principalmente em solos intemperizados e lixiviados, tornando-se alternativa viável para se diminuir a pressão sobre biomas nacionais e viabilizando a produção de madeira para atender às necessidades da sociedade em bases sustentáveis (Schumacher e Vieira, 2016; Ribaski, 2017). Em estudo realizado por Rovedder *et al.*, (2008), evidenciou-se que o plantio de eucalipto em áreas degradadas e com solos de baixa fertilidade, produz impactos positivos na qualidade do solo, acarretando melhorias na fertilidade em virtude do aporte de matéria orgânica na forma de serapilheira.

No ano de 2016, a área plantada com espécies arbóreas no Brasil totalizou 7,84 milhões de hectares, sendo que os plantios de eucalipto ocupam 5,7 milhões de hectares desse total. As plantações de eucalipto concentram-se, principalmente, na região Sudeste, em Minas Gerais (24%) e em São Paulo (17%) (Ibá, 2017). Os biomas onde as plantações de eucalipto foram melhor estabelecidas são a Mata Atlântica (60%), o Cerrado (21%) e a Amazônia (10%). Já o bioma Caatinga contém apenas 1% das plantações de eucalipto (Abraf, 2013).

A importância econômica do eucalipto está relacionada à sua utilização em diversos setores produtivos, a exemplo das indústrias de celulose, madeireira, siderúrgica, entre outras. O eucalipto apresenta destacada importância econômica, constituindo fonte de renda para os setores primários da economia (Souza *et al.*, 2016; Hsing *et al.*, 2016).

Além das vantagens econômicas, as plantações de eucalipto trazem outros benefícios sociais, promovendo a geração de empregos e renda na área rural, evitando, desse modo, o êxodo rural e o desemprego (Abraf, 2013). Os plantios além de serem econômica e socialmente importantes, têm papel fundamental na qualidade de vida, proporcionando melhoria na qualidade do ar, redução da intensidade da erosão, recuperação de áreas degradadas, aumento da biodiversidade, dentre outros.

O plantio de eucalipto necessita de adequada adubação para garantir a manutenção ou obter-se aumentos na produtividade e na qualidade da madeira (Abreu-Junior *et al.*, 2017; Bordron *et al.*, 2019). No entanto, a eficiência dos adubos aplicados depende de vários fatores, a exemplo da idade da árvore, da época de aplicação, da dose, da frequência de aplicação e do tipo de fertilizante. Os principais nutrientes básicos para o crescimento do eucalipto são o potássio, cálcio, magnésio, fósforo e nitrogênio, sendo o último o mais importante (Andrade *et al.*, 1994; Sette *et al.*, 2014).

## **7. Conclusões e perspectivas**

Os plantios de eucalipto são estabelecidos em solos de baixa fertilidade, onde as populações microbianas participam ativamente da disponibilização de nutrientes. Nessas condições de baixa fertilidade, os microrganismos atuam na ciclagem dos nutrientes, promovendo o desenvolvimento das plantas. A cultura do eucalipto depende de microrganismos que atuem como reservatórios ativos de nitrogênio, controlando a disponibilidade do elemento por meio de processos de imobilização, mineralização e fixação biológica. Igualmente, as transformações do P envolvem a participação da microbiota por meio de processos-chave que aumentam a disponibilidade do elemento às plantas. Fungos e bactérias do solo atuam na mobilização de reservatórios pouco reativos do elemento por meio de processos de solubilização e mineralização. Atualmente, tem-se aventado a possibilidade de que alguns microrganismos do solo sejam capazes de reverter o processo de fixação de P às argilas. Em geral, os microrganismos solubilizadores de fosfato, por desempenharem essas funções, contribuem para o aumento da eficiência do uso de fertilizantes fosfatados, levando à redução dos custos de produção.

A utilização de microrganismos fixadores de nitrogênio e solubilizadores de fosfato propicia alternativas viáveis aos produtores, diminuindo a demanda por fertilizantes fosfatados e nitrogenados e contribuindo para a maior conservação do solo.

### **Referências**

ABRAF, Anuário Estatístico. **Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas**. Brasília: ABRAF, 2013. 142p.

ABREU-JUNIOR, C. H., FIRME, L. P., MALDONADO, C. A. B., de MORAES NETO, S. P., ALVES, M. C., MURAOKA, T., BOARETTO, A. E., GAVA, J. L., Ele, Z., NOGUEIRA, T. A. R. CAPRA, G. F. Fertilization using sewage sludge in unfertile tropical soils increased wood production in Eucalyptus plantations. **Journal of Environmental Management**, v. 203, p. 51-58, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.07.074>

AHEMAD, M., KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University-Science**, v. 26, p. 1-20, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>

ALORI, E. T ., GLICK, B. R., BABALOLA, O. O. Solubilização microbiana de fósforo e seu potencial para uso em agricultura sustentável. **Fronteiras em Microbiologia** , v. 8, p. 971, 2017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>

ÁLVAREZ, J., ROCA, M., VALDERRAMA, C., CORTINA, J. L. A phosphorous flow analysis in Spain. **Science of the Total Environment**, v. 612, p. 995-1006, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.299>

ANDRADE, A. D., VITAL, B., BARROS, N. D., DELLA LUCIA, R. M., CAMPOS, J., VALENTE, O. Efeitos da fertilização mineral e da calagem do solo na produção e na qualidade da madeira de eucalipto. **Revista Árvore**, v. 18, p. 69-78, 1994.

ARZANESH, M.H., ALIKHANI, H.A., KHAVAZI, K., RAHIMIAN, H.A., MIRANSARI M. Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, p.197-205, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0444-1>

AWAIS, M., TARIQ, M., ALI, A., ALI, Q., KHAN, A., TABASSUM, B., NASIR, I. A., HUSNAIN, T. Isolation, characterization and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 11, p. 312-321, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.07.018>

BACHA, C. J. C., BARROS, A. L. M. Reflorestamento no Brasil: evolução recente e perspectivas para o futuro. **Scientia Florestalis**, v.1, p. 191-203, 2004.

BALESTRINI, R., LUMINI, E. Focus on mycorrhizal symbioses. **Applied Soil Ecology**, v. 123, p. 299-304, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.001>

BÁRBARO-TORNELI, I. M., FINOTO, E. L., TOKUDA, F. S., MEDEIROS, C. N. F., GASPARINO, A. C., BORGES, W. L. B., CASTELETI, M. L. Influência de modos de

aplicação aa co-inoculação no desempenho agrônômico de Soja. **Nucleus**, v.3, p.105-114, 2018.

BARBOSA, V., BARRETO-GARCIA, P., GAMA-RODRIGUES, E., PAULA, A. D. Biomassa, carbono e nitrogênio na serapilheira acumulada de florestas plantadas e nativa. **Floresta e Ambiente**, v. 24, p. 1-9, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.024315>

BELLÉ, C., GROTH, M. Z., KASPARY, T. E., KHUN, P. R., KULCZYNSKI, S. M. Reprodução de *Pratylenchus* SPP. Em espécies de eucalipto (*Eucalyptus* SPP.). **Nematropica**, v. 48, p. 45-49, 2018.

BERG, G. Plant – microbe interactions promoting plant growth and health : perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, p.11-18, 2009. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2092-7>

BERG, A., DANIELSSON, Å., SVENSSON, B. H. Transfer of fixed-N from N 2-fixing cyanobacteria associated with the moss *Sphagnum riparium* results in enhanced growth of the moss. **Plant and Soil**, v. 362, p. 271-278, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1278-4>

BERGAMASCHI, C., ROESCH, L. F. W., QUADROS, P. D., CAMARGO, F. A. O. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a cultivares de sorgo forrageiro. **Ciência Rural**, v.37, p.727- 733, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000300019>

BHUYAN, D. J., VUONG, Q. V., CHALMERS, A. C., VAN ALTENA, I. A., BOWYER, M. C., SCARLETT, C. J. Phytochemical, antibacterial and antifungal properties of an aqueous extract of eucalyptus microcorys leaves. **South African Journal of Botany**, v.112, p.180-185, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.030>

BORDRON, B., ROBIN, A., OLIVEIRA, I. R., GUILLEMOT, J., LACLAU, J. P., JOURDAN, C., PLASSARD, C. Fertilization increases the functional specialization of fine roots in deep soil layers for young *Eucalyptus grandis* trees. **Forest Ecology and Management**, v.431, p. 6-16, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.03.018>

BOURSCHEIDT, M. L. B., PEDREIRA, B. C., PEREIRA, D. H., ZANETTE, M. C., DEVENS, J. Estratégias de fornecimento de nitrogênio em pastagens: fertilizante mineral, inoculante bacteriano e consórcio com amendoim forrageiro. **Scientific Electronic Archives**, v. 12, p. 137-147, 2019.

BRAGINA, A., BERG, C., MÜLLER, H., MOSER, D., BERG, G. Insights into functional bacterial diversity and its effects on alpine bog ecosystem functioning. **Scientific Reports**, v.3, p. 1-8, 2013. <https://doi.org/10.1038/srep01955>

BRASIL, M. D. S., SOUZA, M. S. T., OLIVEIRA, I. B., DANIEL, O., SANTOS, S. A., MARQUES, M. R., SILVA, W. M. Influence of flood areas on the number of diazotrophic bacteria from pasture grasses. **Applied Ecology and Environmental Sciences**, v. 4, p. 84-88, 2016. <https://doi.org/10.12691 /aees-4-4-1>

BRITO, J. O. O uso energético da madeira. **Estudos Avançados**. v. 21, p.185-193, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142007000100015>

BULEGON, L. G., RAMPIM, L., KLEIN, J., KESTRING, D., GUIMARÃES, V. F., BATTISTUS, A. G., INAGAKI, A. M. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, v. 34, p. 169-176, 2016.

CALDEIRA, M.V.W., VITORINO, M.D., SCHAAT, S.S., MORAES, E., BALBINOT, R. Quantificação de serrapilheira e de nutrientes em uma floresta ombrófila densa. **Semina: Ciência Agrária**. v. 29, p.53-68, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602014000100002>

CARVALHO, D. C., PEREIRA, M. G. G., TOLEDO, L. O., SIMON, C. A., DA SILVA RODRIGUES, J., FERNANDES, J. C. F., NETO, E. C. S. Ciclagem de nutrientes de um plantio de eucalipto em regeneração de espécies nativas no sub-bosque. **Floresta**, v. 47, p. 17-28, 2017. <http://dx.doi.org/10.5380/RF.V47I1.43652>

CHEN, Y. P., REKHA, P. D., ARUN, A. B., SHEN, F. T., LAI, W. A., YOUNG, C. C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v. 34, p. 33-41, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.12.002>

CHEN, Z. H., CHEN, L. J., WU, Z. J. Relationships among persistence of *Bacillus thuringiensis* and cowpea trypsin inhibitor proteins, microbial properties and enzymatic activities in rhizosphere soil after repeated cultivation with transgenic cotton. **Applied Soil Ecology**, v. 53, p.3-30, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.10.019>

CHEQUER, L. P. T., CRAPEZ, M. A. C., FONTANA, L. F., SILVA, F. S. Efeito rizosfera: simbiose entre raízes de plantas e bactérias. **Educação Pública**. 2011. Disponível em: <http://www.educacaopublica.rj.gov.br/biblioteca/biologia/0026.html>. Acessado em: 10 fev. 2019.

CHERUBINI, F., STRØMMAN, A. H. Life cycle assessment of bioenergy systems: state of the art and future challenges. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 437-451, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.010>

COBAN, H. B., DEMIRCI, A. Screening of phytase producers and optimization of culture conditions for submerged fermentation. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, p. 609-616, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1028-x>

DALITZ C.D.A., PORSANI M.V., FIGEL I.C., PIMENTEL I.C., DALZOTO P.R. Potential for biocontrol of melanized fungi by actinobacteria isolated from intertidal region of Ilha do mel , Paraná , Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 48, p. 32–36, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.09.010>

DESA, Un. World population projected to reach 9.7 billion by 2050. **UN DESA United Nations Department of Economic and Social Affairs: New York**, 2015. Extraído de: < <https://www.un.org/en/development/desa/news/population/2015-report.html> >. Acessado em: 23 jun 2020.

DICK, C. F., DOS-SANTOS, A. L. A., MEYER-FERNANDES, J. R. Inorganic phosphate as an important regulator of phosphatases. **Enzyme Research**, v. 2011, p.1-7, 2011. <https://doi.org/10.4061/2011/103980>

DU, J., JIANG, H., SUN, X., LI, Y., LIU, Y., SUN, M., SHU, K. Auxin and gibberellins are required for the receptor-like kinase ERECTA regulated hypocotyl elongation in shade avoidance in *Arabidopsis*. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 124, 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00124>

DUFFY, B., NOWAK, J., CLE, C. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. **Applied and Environmental Microbiology** v. 71, p. 4951–4959, 2005. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>

EINSLE, O. Nitrogenase FeMo cofactor: an atomic structure in three simple steps. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v.19, p.737-745, 2014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00802>

ELSER, J. J., ROBERTS, W. M., HAYGARTH, P. M. The biology and ecology of phosphorus in biota, natural ecosystems and agroecosystems. In: Karl A. Wyant, Jessica E. Corman, Jim J. Elser (Editors). **Phosphorus, food and our future**. New York: Oxford University Press, 2013. p. 20-39

EMBRAPA. **Plantações florestais**: Geração de benefícios com baixo impacto ambiental. 2016. Disponível em: [http://iba.org/images/shared/Biblioteca/Estudo\\_embrapa.pdf](http://iba.org/images/shared/Biblioteca/Estudo_embrapa.pdf). Acesso em: 07 de fevereiro. 2019.

EMBRAPA Florestas. **Cultivo do Eucalipto**. Importância socioeconômica e ambiental. 2003. Disponível em: <[www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br](http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br)>. Acessado em: 06 fev 2019.

ESPAÑA, M. D., ARBOLEDA, J. W., RIBEIRO, J. A., ABDELNUR, P. V., GUZMAN, J. D. Eucalyptus leaf byproduct inhibits the anthracnose-causing fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. **Industrial Crops and Products**, v.108, p. 793-797, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.002>

ETESAMI, H., MAHESHWARI, DK. Ecotoxicology and Environmental Safety Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. **Ecotoxicology Environmental Safety Elsevier** .V. 156, p. 225–246, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>

FIGUEIREDO, M.V.B., BONIFACIO, A., RODRIGUES, AC., ARAUJO, FF. DE. Plant growth-promoting rhizobacteria: key mechanisms of action. In: **Microbial-mediated induced systemic resistance in plants**. Springer, Singapore, 2016. p. 23-37. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-0388-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-10-0388-2_3)

GAMA-RODRIGUES, E.F., BARROS, N.F., GAMA-RODRIGUES, A.C., SANTOS, G.A. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. **Revista Brasileira da Ciência do Solo**. v. 29, p. 893-901, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832005000600007>

GARCÍA-FRAILE, P., MENÉNDEZ, E., RIVAS, R. Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. **American Institute of Mathematical Sciences Bioengineering**, v. 2, p. 183, 2015. <http://dx.doi.org/10.3934/bioeng.2015.3.183>

GARLET, J., COSTA, E. C., BOSCARDIN, J. Levantamento da entomofauna em plantios de eucalyptus spp. por meio de armadilha luminosa em São Francisco de Assis-RS. **Revista Ciência Florestal**. v.26, p.365-374, 2016. <https://doi.org/10.5902/1980509822737>

GHAZALIBIGLAR, H., HAMPTON, JG., JONG, EVZ. DE., HOLYOAKE, A. Is induced systemic resistance the mechanism for control of black rot in *Brassica oleracea* by a *Paenibacillus* sp.?. **Biological Control**, v. 92, p. 195-201, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.014>

GÍRIO, L.A. DA S., DIAS, F.L.F., REIS, V.M., URQUIAGA, S., SCHULTZ, N., BOLONHEZI, D., MUTTON, M.A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, p.33-43, 2015. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015000100004>

GLICK, B.R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v.2012, p. 1-15, 2012. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>

GOENADI, D. H., SUGIARTO, Y. Bioactivation of poorly soluble phosphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 927-932, 2000. <https://doi.org/10.2136/sssaj2000.643927x>

GOLDSTEIN, AH., Braverman, K., OSORIO, N. Evidence for mutualism between a plant growing in a phosphate-limited desert environment and a mineral phosphate solubilizing (MPS) rhizobacterium. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 30, p. 295-300, 1999. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1999.tb00657.x>

GONG, Y., BAI, J., YANG, H., ZHANG, W., XIONG, Y., DING, P., QIN S. Phylogenetic diversity and investigation of plant growth-promoting traits of actinobacteria in coastal salt marsh plant rhizospheres from Jiangsu, China. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 41, p. 516-527, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2018.06.003>

GONZÁLEZ, N., ELISSETCHE, J., PEREIRA, M., FERNÁNDEZ, K. Extraction of polyphenols from *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus*: Experimental kinetics, modeling and evaluation of their antioxidant and antifungal activities. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 737-745, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.038>

GOPALAKRISHNAN, S., SRINIVAS, V., VEMULA, A., SAMINENI, S. Influence of diazotrophic bacteria on nodulation, nitrogen fixation, growth promotion and yield traits in five cultivars of chickpea. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 15, p. 35-42, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.05.006>

GUIMARÃES V.F., BATTISTUS A.G., SOUZA A.K.P. de, BULEGON L.G., OFFEMANN L.C., INAGAKI A.M. Bactérias promotoras de crescimento vegetal: da FBN à regulação hormonal, possibilitando novas aplicações. In: ZAMBOM M.A., KUHN O.J., SILVA N.L.S. da, STANGARLIN JR, NUNES R.V., FULBER V.M., EYNG C., editores. **Ciências agrárias: ética do cuidado, legislação e tecnologia na agropecuária**. 1st ed. Marechal Candido Rondon: Centro de Ciências Agrárias/ Unioeste, 2017. p. 193–212.

HAMEEDA, B., HARINI, G., RUPELA, O. P., WANI, S. P., REDDY, G. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. **Microbiological Research**, v. 163, p. 234-242, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.05.009>

HII, Y. S., SAN CHAN, Y., LAU, S. W., MICHAEL, D. Isolation and characterisation of phosphate solubilizing microorganisms from peat. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 26, p.101-643, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101643>

HIRUMA, K., GERLACH, N., BUCHER, M., CONNELL, R.J.O., SCHULZE-LEFERT, P., NAKANO, R.T., BUCHER, M., CONNELL, R.J.O., SCHULZE-LEFERT, P. Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status dependent. **Cell**, v. 165, p. 464-474, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.028>

HOYSTED, GA., KOWAL, J., JACOB, A., RIMINGTON, WR., DUCKETT, JG., PRESSEL, S., ORCHARD, S., RYAN, MH., FIELD, KJ., BIDARTONDO, MI. A mycorrhizal revolution. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 44, p. 1-6, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.12.004>

HSING, T. Y., PAULA, N. F. D., PAULA, R. C. D. Características dendrométricas, químicas e densidade básica da madeira de híbridos de *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, v. 26, p.273-283, 2016. <https://doi.org/10.5902/1980509821119>

HU, Y., RIBBE, M. W. Nitrogenase assembly. **Biochimica Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1827, p. 1112-1122, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2012.12.001>

HUANG, X., HOU, L., MENG, J., YOU, H., LI, Z., GONG, Z., SHI, Y. The antagonistic action of abscisic acid and cytokinin signaling mediates drought stress response in *Arabidopsis*. **Molecular Plant**, v. 11, p. 970-982, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.05.001>

HUNGRIA, M., CAMPO, R. J., SOUZA, E. M., PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, p.413-425, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>

IBÁ, relatório 2017. **Indústria Brasileira de Árvores**. Brasília, 2017. 80p. Disponível em: < [https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA\\_RelatorioAnual2017.pdf](https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf) >. Acessado em: 20 mar 2020.

IBARROLA-RIVAS, M. J., GRANADOS-RAMÍREZ, R., NONHEBEL, S. Is the available cropland and water enough for food demand? A global perspective of the land-water-food nexus. **Advances in Water Resources**, v. 110, p. 476-483, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2017.09.018>

JACOBS, B., CORDELL, D., CHIN, J., ROWE, H. Towards phosphorus sustainability in North America: A model for transformational change. **Environmental Science & Policy**, 77, 151-159, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2017.08.009>

JEON, J., KIM, J. Arabidopsis response Regulator1 and Arabidopsis histidine phosphotransfer Protein2 (AHP2), AHP3, and AHP5 function in cold signaling. **Plant Physiology**, v. 161, n. 1, p. 408-424, 2013. <https://doi.org/10.1104/pp.112.207621>

JHA, S. Kr., AHMAD, Z., CROWLEY, D. E. Fuzzy-genetic approaches for estimation of microbial rock phosphate solubilization in sandy clay loam textured soil. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 150, p. 125-133, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.04.014>

JOHNSON, D. W., TURNER, J. Nutrient cycling in forests: A historical look and newer developments. **Forest Ecology and Management**, v. 444, p. 344-373, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.04.052>

JOHNSTON-MONJE, D., RAIZADA, M.N. Plant and Endophyte Relationships: Nutrient Management. **Comprehensive Biotechnology**. v. 4, p. 713-727, 2011. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00264-6>

PEDRO JÚNIOR, A. Uso de microorganismos da rizosfera para o aumento e melhoramento das colheitas. **Revista Científica Multidisciplinária**, v.1, p. 73- 83, 2015.

KANT, S. Understanding nitrate uptake, signaling and remobilisation for improving plant nitrogen use efficiency. In: **Seminars in Cell & Developmental Biology**. Academic Press, 2018. p. 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2017.08.034>

KASAHARA, H. Current aspects of auxin biosynthesis in plants. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 80, 34-42, 2016. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1086259>

KHAMMAS, K.M., AGERON, E., GRIMONT, P.A.D., KAISER, P. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. **Research Microbiology**, v.140, p.679-693, 1989. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(89\)90199-X](https://doi.org/10.1016/0923-2508(89)90199-X)

KOPPELAAR, R. H. E. M., WEIKARD, H. P. Assessing phosphate rock depletion and phosphorus recycling options. **Global Environmental Change**, v. 23, p. 1454-1466, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2013.09.002>

KUMAR, A., VERMA, J. P. Does plant-microbe interaction confer stress tolerance in plants: a review?. **Microbiological Research**, v. 207, p. 41-52, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.004>

KUMAR, CMS., JACOB, TK., DEVASAHAYAM, S., THOMAS, S., GEETHU, C. Multifarious plant growth promotion by an entomopathogenic fungus *Lecanicillium psalliotae*. **Microbiological Research**, v. 207, p. 153-160, 2018a. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.017>

KUMAR, P., THAKUR, S., DHINGRA, GK., PAL, MK., HARSHVARDHAN, K., DUBEY, RC., MAHESHWARI, DK. Inoculation of siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 15, p. 264-269, 2018b. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.019>

KUMARI, K., PHOGAT, V. K. Rock phosphate: Its availability and solubilization in the soil—A review. **Agricultural Reviews**, v. 29, p. 108-116, 2008.

LEWIS, JR. W. M., WURTSBAUGH, W. A., PAERL, H. W. Rationale for control of anthropogenic nitrogen and phosphorus to reduce eutrophication of inland waters. **Environmental Science and Technology**, v. 45, p. 10300-10305, 2011. <https://doi.org/10.1021/es202401p>

LEWIS, J. D. “Mycorrhizal Fungi, Evolution and Diversification of,” in **Encyclopedia of Evolutionary Biology**, ed. R. M. Kliman (Oxford: Academic Press), p. 94–99, 2016. doi: 10.1016/B978-0-12-800049-6.00251-1

LI, B., BOIARKINA, I., YOUNG, B., YU, W., SINGHAL, N. Prediction of future phosphate rock: a demand based model. **Journal of Environmental Informatics**, v. 1, p. 41-53, 2018. <http://doi.org/10.3808/jei.201700364>

LI, D., ZHANG, X., LI, L., AGHDAM, M. S., WEI, X., LIU, J., LUO, Z. Elevated CO<sub>2</sub> delayed the chlorophyll degradation and anthocyanin accumulation in postharvest strawberry fruit. **Food Chemistry**, v. 285, p. 163-170, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.150>

LIMA, F.S., SOUSA, C.S. Crescimentto e nutrição de mudas de clones de eucalipto inoculadas com fungos micorrízicos. **Pesquisa Agopécuaria Tropical**. v. 44, p.110-118, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632014000200006>

LIU, H., CHEN, X., SONG, L., LI, K., ZHANG, X., LIU, S., QIN, Y., LI, P. Polysaccharides from *Grateloupia filicina* enhance tolerance of rice seeds (*Oryza sativa* L.) under salt stress. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 124, p. 1197-1204, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.270>

LIU, Y., WANG, W., ZHOU, Y., YAO, S., DENG, L., ZENG, K. Isolation, identification and *in vitro* screening of Chongqing orangery yeasts for the biocontrol of *Penicillium digitatum* on citrus fruit. **Biological Control**, v. 110, p. 18-24, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.002>

LJUNG, K. Auxin metabolism and homeostasis during plant development. **Development**, v. 140, p. 943-950, 2013. <http://doi.org/10.1242/dev.086363>

LUO, J., QI, S., PENG, L., XIE, X. Enhanced phytoremediation capacity of a mixed-species plantation of *Eucalyptus globulus* and chickpeas. **Journal of Geochemical Exploration**, v.182, p. 201-205, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2017.01.006>

MACHIANI, M. A., JAVANMARD, A., MORSHEDLOO, M. R., MAGGI, F. Evaluation of yield, essential oil content and compositions of peppermint (*Mentha piperita* L.) intercropped with faba bean (*Vicia faba* L.). **Journal of Cleaner Production**, v. 171, p. 529-537, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.062>

MAHMOOD, S., AHMAD, M., AHMAD, Z., JAVAID, A., ASHRAF, M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity

under stressful environments. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 429-448, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.005>

MAIKHURI, R. K., DANGWAL, D., NEGI, V. S., RAWAT, L. S. Evaluation of symbiotic nitrogen fixing ability of legume crops in Central Himalaya, India. **Rhizosphere**, v. 1, p. 26-28, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.06.001>

MAIS FLORESTA. **Eucalipto - A produção de eucalipto no Brasil: benefícios para o meio ambiente**. 2015. Disponível em: < <http://www.maisfloresta.com.br/artigos/eucalipto/a-producao-de-eucalipto-no-brasil-beneficios-para-o-meio-ambiente-8.html>>. Acessado em: 12 fev 2019.

MARCHETTI, M.M., BARP, E.A. Efeito rizosfera: a importância de bactérias fixadoras de nitrogênio para o solo/planta – revisão. **Journal Systems**. v.4, p.61-71, 2016.

MASSENSINI, A. M., TÓTOLA, M. R., BORGES, A. C., COSTA, M. D. Isolamento e caracterização de bactérias solubilizadoras de fosfato da rizosfera de *Eucalyptus sp.* **Revista Árvore**, v. 40, p.125-134, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-67622016000100014>

MASSENSINI, A. M., TÓTOLA, M. R., BORGES, A. C., COSTA, M. D. Solubilização potencial de fosfatos mediada pela microbiota rizosférica de eucalipto cultivado em topossequência típica da Zona da Mata Mineira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 692-700, 2015. <https://doi.org/10.1590/01000683rbc20140339>

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. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.12.001>

MATTOO, A. K., WHITE, W. B. Regulation of ethylene biosynthesis. In: Autar K. Matto and Jeffrey C Suttle (Editors). **The plant hormone ethylene**. 1<sup>a</sup> ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. p. 21-42.

MAYER, J., SCHEID, S., WIDMER, F., FLIEßBACH, A., OBERHOLZER, H. How effective are ‘Effective microorganisms® (EM)’? Results from a field study in temperate climate. **Applied Soil Ecology**, v. 46, p. 230-239, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.08.007>

MAYER, B. K., BAKER, L. A., BOYER, T. H., DRECHSEL, P., GIFFORD, M., HANJRA, M. A., RITTMANN, B. E. Total value of phosphorus recovery. **Environmental Science and Technology**, v. 50, p. 6606-6620, 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01239>

MCGILL, W. B., COLE, C. V. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. **Geoderma**, v. 26, p. 267-286, 1981. [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(81\)90024-0](https://doi.org/10.1016/0016-7061(81)90024-0)

MELLONI, R., MELLONI, E. G. P., ALVARENGA, M.I.N.A., VIEIRA, F.B.M. Avaliação da qualidade de solos sob diferentes coberturas florestais e de pastagem no sul de minas gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 32, p.2461-5470, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000600023>

MENDES, G.O., FREITAS, A.L.M., PEREIRA, O.L., SILVA, I.R., VASSILEV, N.B., COSTA, M.D. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, v. 64, p. 239-249, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0656-3>

MENDES, G. D. O., DA SILVA, N. M. R. M., ANASTÁCIO, T. C., VASSILEV, N. B., RIBEIRO JR, J. I., DA SILVA, I. R., COSTA, M. D. Optimization of *Aspergillus niger* rock phosphate solubilization in solid-state fermentation and use of the resulting product as a P fertilizer. **Microbial Biotechnology**, v. 8, p. 930-939, 2015. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12289>

MENDES, G., ZAFRA, D. L., VASSILEV, N. B., SILVA, I. R., RIBEIRO, J. I., COSTA, M. D. Biochar enhances *Aspergillus niger* rock phosphate solubilization by increasing organic acid production and alleviating fluoride toxicity. **Applied and Environmental Microbiology** v. 80, p. 3081-3085, 2014. <https://doi.org/10.1128/AEM.00241-14>

MENDES, R. G., GASTL FILHO, J., MENEZES, D. P., DA SILVA, A. P. S., DE LIMA BRAGA, D., JACOB, M. A. M., FIALHO, A. Efeito do Stimulate® na qualidade de fisiológica de sementes de eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*) /Effect of Stimulate® on the physiological quality of Eucalyptus Seeds (*Eucalyptus camaldulensis*). **Brazilian Journal of Development**, v. 5, p. 1877-1885, 2019.

MEW, M. C., STEINER, G., GEISSLER, B. Phosphorus supply chain-Scientific, technical, and economic foundations: A transdisciplinary orientation. **Sustainability**, v. 10, p. 1087, 2018. <https://doi.org/10.3390/su10041087>

MIGUEL, P. S. B., DE OLIVEIRA, M. N. V., DELVAUX, J. C., JESUS, G. L., BORGES, A. C., TÓTOLA, M. R., COSTA, M. D. Diversity and distribution of the endophytic bacterial community at different stages of eucalyptus growth. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 109, p. 755-771, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0676-7>

MISHRA, R.R., PRAJAPATI, S., DAS, J., DANGAR, TK, DAS, N., THATOI, H. Reduction of selenite to red elemental selenium by moderately halotolerant *Bacillus megaterium* strains isolated from Bhitarkanika mangrove soil and characterization of reduced product. **Chemosphere**, v. 84, p. 1231-1237, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.025>

MITCHELL, M.E., HAMILTON, T.L., UEBEL-NIEMEIER, C, HOPFENSBERGER, K.N., BU, I. Nitrogen cycling players and processes in green roof ecosystems. **Applied Soil Ecology**, v. 132, p. 114-125, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.08.007>

MOREIRA, C. D., PEREIRA, D. H., COIMBRA, R. A., MOREIRA, D. A. Germinação de gramíneas forrageiras em função da inoculação de bactérias diazotróficas. **Scientific Electronic Archives**, v. 6, p. 90-96, 2014.

MOREIRA, F.M.S., SILVA, K., NÓBREGA, R.S.A., CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**. v.1, p.74-99, 2010.

NAHAS, E., CENTURION, J. F., ASSIS, L. C. Efeito das características químicas dos solos sobre os microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 18, p. 49-53, 1994a.

NESME T, METSON GS, BENNETT EM. Global patterns and substrate-based mechanisms of the terrestrial nitrogen cycle. **Ecology Letters**, v. 19, p. 697-709, 2016. <https://doi.org/10.1111/ele.12591>

NEWTON, W. E. Physiology, biochemistry, and molecular biology of nitrogen fixation. In: **Biology of the Nitrogen Cycle**. Elsevier, 2007. p. 109-129. <https://doi.org/10.1016/B978-044452857-5.50009-6>

NIU, S., CLASSEN, A. T., DUKES, J. S., KARDOL, P., LIU, L., LUO, Y., THOMAS, R. Q. Global patterns and substrate-based mechanisms of the terrestrial nitrogen cycle. **Ecology Letters**, v. 19, p. 697-709, 2016. <https://doi.org/10.1111/ele.12591>

NOVAIS, R.F., ALVAREZ V., V.H., BARROS, N.F., FONTES, R.L.F., CANTARUTTI, R.B. NEVES, J.C.L. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2007. 1017p.

OKUMURA, R. S., MARIANO, D. C., ZACCHEO, P. V.C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, v.4, p. 226–244, 2011. <https://doi.org/10.5777/paet.v4i2.1337>

OLIVEIRA, C.A., ALVES, V.M.C, MARRIEL, I.E., GOMES, E.A., SCOTTI, M.R., CARNEIRO, N.P., GUIMARA, C.T. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1782-1787, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.012>

OROZCO-MOSQUEDA, C., ROCHA-GRANADOS, C., GLICK, B.R., SANTOYO, G. Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. **Microbiological Research**, v.208, p.25–31, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.005>

PABIS, A., KAMERLIN, S. C. L. Promiscuity and electrostatic flexibility in the alkaline phosphatase superfamily. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 37, p. 14-21, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2015.11.008>

PAJARES, S., BOHANNAN, B. J.M. Ecology of nitrogen fixing, nitrifying, and denitrifying microorganisms in tropical forest soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1045, 2016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01045>

PEARCE, B.J., CHERTOW, M. Scenarios for achieving absolute reductions in phosphorus consumption in Singapore. **Journal of Cleaner Production. Elsevier**, v. 140, p.1587–1601, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.09.199>

PEGORARO, R. F., SILVA, I. R., NOVAIS, R. F., BARROS, N. F., CANTARUTTI, R. B., FONSECA, S. Abundância natural de <sup>15</sup>N e formas de nitrogênio em argissolo cultivado com eucalipto e acácia. **Ciência Florestal**, v. 26, p. 295-305, 2016. <http://dx.doi.org/10.5902/1980509821121>

PEREIRA, W., LEITE, J.M., HIPÓLITO, G. DE S., SANTOS, C.L.R., REIS, V.M. Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p.363-370, 2013.<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902013000200020>

PHILIPPOT, L., RAAIJMAKERS, J. M., LEMANCEAU, P., VAN DER PUTTEN, W. H. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 789-799, 2013. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>

PIKOVSKAYA, R. I. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. **Microbiologia**.v. 17, p. 362-70, 1948.

PIMENTEL, D., BURGESS, M. World human population problems. In Dellasala DA, Goldstein MI. (ed), *Encyclopedia of the Anthropocene* (313-317), Elsevier, Waltham MA, USA 2018. doi: 10.1016/B978-0-12-809665-9.09303-4

PRABHU, N., BORKAR, S., GARG, S. Phosphate solubilization by microorganisms: Overview, mechanisms, applications and advances. **Biological Science Research**. v.11, p.161–176, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817497-5.00011-2>

RADHAKRISHNAN, R., LEE, IN-JUNG. Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 181-189, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.018>

RASCIO N, ROCCA N LA. Biological nitrogen fixation. In: Elias SA (ed) **Módulo de referência em sistemas terrestres e ciências ambientais**. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 412–419. <http://doi.org/10.1016 / B978-0-12-409548-9.00685-0>

RASCIO, N., ROCCA, N. Biological Nitrogen Fixation. **Encyclopedia of Ecology**, v. 2, p.264-279, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63768-0.00685-5>

RAZA, W., SHEN, Q. Growth, Fe<sup>3+</sup> reductase activity, and siderophore production by *Paenibacillus polymyxa* SQR-21 under differential iron conditions. **Current Microbiology**, v. 61, p. 390-395, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9624-3>

REZENDE, G. D. SP., DE RESENDE, M. D. V., DE ASSIS, T. F. Eucalyptus breeding for clonal forestry. In: **Challenges and Opportunities for the World's Forests in the 21st Century**. Springer, Dordrecht, 2014. p. 393-424. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-7076-8\\_16](https://doi.org/10.1007/978-94-007-7076-8_16)

RIBASKI, J. Tecnologias silviculturais para produção de florestas energéticas. **EMBRAPA – Documentos (INFOTECA-E)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2017. 36 p.

RITCHIE, M. E., RAINA, R. Effects of herbivores on nitrogen fixation by grass endophytes, legume symbionts and free-living soil surface bacteria in the Serengeti. **Pedobiologia**, v.59, p. 233-241, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2016.09.001>

ROBLES, Á., AGUADO, D., BARAT, R., BORRÁS, L., BOUZAS, A., GIMÉNEZ, J. B., FERRER, J. New frontiers from removal to recycling of nitrogen and phosphorus from wastewater in the circular economy. **Bioresource Technology**, v. 300, p.1226-73, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122673>

ROVEDDER, A. P. M., ELTZ, F. L. F. Desenvolvimento do *Pinus elliottii* e do *Eucalyptus tereticornis* consorciado com plantas de cobertura, em solos degradados por arenização. **Ciência Rural**, v. 38, p. 84-89, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000100014>

SAH, S. K., REDDY, K. R., LI, J. Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 571, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00571>

SANTAROSA, E., PENTEADO JUNIOR, J. F., GOULART, I.C.G.R. Transferência de tecnologia florestal: cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda. **EMBRAPA -Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E). Brasília: Embrapa Florestas**, 2014. 138 p.

SANTOS, R. S., GONÇALVES, R., ANJOS SILVA, N. Primeiro registro do besouro-amarelo-do-eucalipto em plantio de eucalipto no Estado do Acre. **Revista Ceres**, v. 63, p. 584-587, 2016. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201663040020>

SANTOYO, G., MORENO-HAGELSIEB, G., DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA, M., GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92-99, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>

SARABIA M, CORNEJO P, AZCÓN R, CARREÓN-ABUD Y, LARSEN J. Mineral phosphorus fertilization modulates interactions between maize, rhizosphere yeasts and arbuscular mycorrhizal fungi. **Rhizosphere**, v. 4, p. 89-93, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.09.001>

SCHOLZ, R. W., WELLMER, F-W. Although there is no physical short-term scarcity of phosphorus, its resource efficiency should be improved. **Journal of Industrial Ecology**, v. 23, p. 313-318, 2019. <https://doi.org/10.1111/jiec.12750>

SCHULTZ, N., SILVA, J.A., SOUSA, J.S., MONTEIRO, R.C., OLIVEIRA, R.P., CHAVES, V.A., PEREIRA, W., SILVA, M.F., REIS, V.M., URQUIAGA, S. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.38, p.359-371, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832014000200005>

SCHUMACHER, M. V., VIERA, M (Ed). **Silvicultura do eucalipto no Brasil**. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciencia-Editora UFSM, 2016, 306p.

SETTE JR, C. R., DEUS JR, J. C., TOMAZELLO FILHO, M., PADUA, F. A., CALIL, F. N., LACLAU, J. P. Alterações na qualidade da madeira de *Eucalyptus grandis* causadas pela adubação mineral. **Cerne**, v. 20, p. 251-258, 2014. <https://doi.org/10.1590/01047760.201420021499>

SHARMA, R., SINDHU, S., SINDHU, S. S. Suppression of *Alternaria* blight disease and plant growth promotion of mustard (*Brassica juncea* L.) by antagonistic rhizosphere

bacteria. **Applied Soil Ecology**, v. 129, p. 145-150, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.05.013>

SHARMA, S., KUMAR, V., TRIPATHI, R. B Isolation of phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 1, p. 90-95, 2011.

SHARMA, S. R.Z., SAYYED, M.H., TRIVEDI, T.A. Gobi Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils **SpringerPlus**, v. 2, p. 587-600, 2013. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>

SHEN, J., YUAN, L., ZHANG, J., LI, H., BAI, Z., CHEN, X., ZHANG, F. Phosphorus dynamics: from soil to plant. **Plant Physiology**, v. 156, p. 997-1005, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.111.175232>

SHRIVASTAVA, M., SRIVASTAVA, P. C., D'SOUZA, S. F. Phosphate-solubilizing microbes: diversity and phosphates solubilization mechanism. In MEENA, V. S. (Ed.). **Role of Rhizospheric Microbes in Soil**. Springer, Singapore, 2018, p. 137-165. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-0044-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-13-0044-8_5)

SILVA FILHO, G. N., NARLOCH, C., SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 847-854, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2002000600014>

SILVA, M. D. C. S., MENDES, I. R., PAULA, T. D. A., DIAS, R. S., PAULA, S. O., SILVA, C. C., BAZOLLI, D.M.S., KASUYA, M. C. M. Expression of the *nifH* gene in diazotrophic bacteria in *Eucalyptus urograndis* plantations. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 46, p. 190-199, 2015. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2015-0063>

SILVA, M.C.S., PAULA, T.A., MOREIRA, B.C., CAROLINO, M., CRUZ, C., BAZZOLLI, D.M.S., SILVA, C.C., KASUYA, M.C.M. Nitrogen-Fixing Bacteria in *Eucalyptus globulus* Plantations **Plos One** v.9, p. e111313, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111313>

SONG, L., LIU, P., JIANG, W., GUO, Q., ZHANG, C., BASIT, A., LI, Y., LI, J.  $\alpha$ -Lys424 Participates in Insertion of FeMoco to MoFe protein and maintains nitrogenase activity in *Klebsiella oxytoca* M5al. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 802, 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00802>

SOUZA, D. V., BLEICH, M. E., MARTINS, N. P., BASSOTTO, J. M., MORTAT, A. F., SANTOS, A. F. A. Concentração de nutrientes em *Eucalyptus urograndis* (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden x *Eucalyptus urophylla* S. T Blake) com sete anos de idade na borda sul da Amazônia. **Biodiversidade**, v. 15, p. 35-44, 2016.

SPENCE, C., BAIS, H. Role of plant growth regulators as chemical signals in plant–microbe interactions: a double edged sword. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 27, p. 52-58, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.05.028>

SPOHN, M., KUZYAKOV, Y. Distribution of microbial-and root-derived phosphatase activities in the rhizosphere depending on P availability and C allocation–Coupling soil

zymography with <sup>14</sup>C imaging. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 67, p. 106-113, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.015>

STÜEKEN, E.E., KIPP, M.A., KOEHLER, M.C., BUICK R. The evolution of Earth's biogeochemical nitrogen cycle. **Earth-Science Reviews**, v. 160, p. 220-239, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.07.007>

SUELEN, T., MONTEIRO, A., VASCONCELOS, S., NEY, I., MELLO, K DE., COUTINHO, B., CATARINA, M., KASUYA, M., VICTOR, J., ARAÚJO, D. Nematophagus fungi increasing phosphorus uptake and promoting plant growth. **Biological control**, v. 123, p. 71-75, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.05.003>

THILAKARATHNA, M.S., PAPADOPOULOS, Y.A., RODD, A.V., GRIMMETT, M., FILLMORE, S. A. E., CROUSE, M. Prithiviraj, B. N fixation and transfer of red clover genotypes under legume grass forage-based production systems, **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v.106, p. 233 -247, 2016.

TRAN, H. T., HURLEY, Brenden A., PLAXTON, William C. Feeding hungry plants: the role of purple acid phosphatases in phosphate nutrition. **Plant Science**, v. 179, p. 14-27, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.04.005>

TÜRK, M., SANDBERG, A. S., CARLSSON, N. G., ANDLID, T. Inositol hexaphosphate hydrolysis by Baker's yeast. Capacity, kinetics, and degradation products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 100-104, 2000. <https://doi.org/10.1021/jf9901892>

VENTURI, V., KEEL, C. Signaling in the rhizosphere. **Trends in Plant Science**, v. 21, p. 187-198, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.005>

VERSINI, A., LACLAU, J. P., MARESCHAL, L., PLASSARD, C., DIAMESSO, L. A., RANGER, J., ZELLER, B. Nitrogen dynamics within and between decomposing leaves, bark and branches in Eucalyptus planted forests. **Soil Biology and Biochemistry**, v.101, p. 55-64, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.06.034>

VIEIRA, J., TEIXEIRA, M.B., LOSS, A., LIMA, E., ZONTA, E. Produção de folheto e retorno de nutrientes ao solo pela espécie Eucalyptus urograndis. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.4, p.40-43, 2009.

VIGHI, I. L., CRIZEL, R. L., PERIN, E. C., ROMBALDI, C. V., GALLI, V. Crosstalk during fruit ripening and stress response among abscisic acid, calcium-dependent protein kinase and phenylpropanoid. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 38, p. 99-116, 2019. <https://doi.org/10.1080/07352689.2019.1602959>

VILLALOBOS-GONZÁLEZ, L., PEÑA-NEIRA, A., IBÁÑEZ, F., PASTENES, C. Long-term effects of abscisic acid (ABA) on the grape berry phenylpropanoid pathway: gene expression and metabolite content. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 105, p. 213-223, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.012>

VITAL, M.H.F. Impacto ambiental de florestas de eucalipto. **Revista do BNDES**, Rio de Janeiro, v. 14, p. 235-275, 2007.

- VITORAZI FILHO, J. A., LIMA, K. B., FREITAS, M. S. M., MARTINS, M. A., OLIVARES, F. L. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas sob diferentes doses de fósforo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 442-450, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452012000200017>
- WALPOLA, B. C., YOON, M. H. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, p. 6600-6605, 2012. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.889>
- WANG, X., ZHANG, M., GAO, J., PU, T., BILAL, M., WANG, Y., ZHANG, X. Antifungal activity screening of soil actinobacteria isolated from inner Mongolia, China. **Biological Control**, v. 127, p. 78-84, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.007>
- WANG, F., CUI, X., SUN, Y., DONG, C-H. Ethylene signaling and regulation in plant growth and stress responses. **Plant cell reports**, v. 32, p. 1099-1109, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1421-6>
- XIE, Z., CHU, Y., ZHANG, W., LANG, D., ZHANG, X. *Bacillus pumilus* alleviates drought stress and increases metabolite accumulation in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. **Environmental and experimental botany**, v. 158, p. 99-106, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.11.021>
- ZAIDI, A., KHAN, MS., AHMED, M., OVES, M. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. **Acta microbiologica et immunologica Hungarica**, v. 56, p. 263-284, 2009. <https://doi.org/10.1556/amicr.56.2009.3.6>
- ZHU, J., QU, B., LI, M. Phosphorus mobilization in the yeyahu wetland: phosphatase enzyme activities and organic phosphorus fractions in the rhizosphere soils. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 124, p. 304-313, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.05.010>
- ZIMMER, S., MESSMER, M., HAASE, T., PIEPHO, H., MINDERMAN, A., SCHULZ, H., HABEKUß, A., ORDON, F., WILBOIS, K., HEß, J. Effects of soybean variety and *Bradyrhizobium* strains on yield, protein content and biological nitrogen fixation under cool growing conditions in Germany. **European Journal of Agronomy**, v. 72, p. 38-46, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.008>
- ZULIANI, D. Q., ABREU, L. B., CURI, N., FONSECA, S., MARQUES, J. J. Balanço geoquímico em uma microbacia hidrográfica sob plantio de eucalipto. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, p. 28-37, 2016. <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2016.2899>
- ZWACK, P. J., ROBINSON, B. R., RISLEY, M. G., RASHOTTE, A. M. Cytokinin response factor 6 negatively regulates leaf senescence and is induced in response to cytokinin and numerous abiotic stresses. **Plant and Cell Physiology**, v. 54, p. 971-981, 2013. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct049>

## **CAPÍTULO 2**

### **ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL DA RIZOSFERA DE EUCALIPTO**

## ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL DA RIZOSFERA DE EUCALIPTO

### RESUMO

O eucalipto necessita de adequada adubação para obtenção de melhor produtividade e qualidade da madeira. Em geral, os plantios de eucalipto são estabelecidos em solos de baixa fertilidade, onde as populações microbianas do solo podem contribuir significativamente para a disponibilização de nutrientes para as plantas, especialmente aqueles de maior demanda, a exemplo do N e do P. A associação de bactérias promotoras do crescimento vegetal com o eucalipto pode contribuir para o crescimento e o desenvolvimento da planta por meio de distintos mecanismos de promoção do crescimento vegetal. O objetivo deste trabalho foi o de isolar bactérias potencialmente promotoras de crescimento vegetal (BPCV) da rizosfera de eucalipto, caracterizar taxonomicamente os isolados obtidos e estudar a expressão de mecanismos de promoção de crescimento vegetal *in vitro*. O isolamento das BPCV potenciais foi realizado usando-se solo rizosférico de plantas de *Eucalyptus grandis* nos meios de cultura desenhados para procariotos diazotróficos (LGI, JNFB, JMV, LGIP e NFB) visando a obtenção de isolados com a capacidade de expressão de um ou mais mecanismos bioquímicos de promoção do crescimento vegetal. Após o isolamento em cultura pura, 51 isolados foram caracterizados pela técnica de coloração de Gram e identificados pelo método MIDI. No meio LGP isolaram-se 24 % das culturas obtidas; no JNFB, 24 %; nos meios JMV, LGIP e NFB foram isoladas, respectivamente, 30, 8 e 14 % das culturas. Os isolados obtidos pertencem aos gêneros *Ralstonia*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paenebacillus*, *Staphylococcus*, *Virgibacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas*. Setenta e oito por cento dos isolados foram capazes de solubilizar fosfato de cálcio e de alumínio. Já para a produção de sideróforos 96 % produziram resultado positivo. Os valores de solubilização de fosfato de cálcio em meio NBRIP variaram de 24,84 a 178,48 mg L<sup>-1</sup>. O isolado mais eficiente solubilizou 17,86 % do do P contido no fosfato tricálcio. Para o fosfato de alumínio, os valores de solubilização obtidos variaram de 7,68 a 29,68 mg L<sup>-1</sup>. O isolado mais eficiente solubilizou 2,38 % do fosfato de alumínio. Além da atividade diazotrófica, confirmada por relatos de literatura, as culturas obtidas apresentaram a capacidade de solubilizar fontes de fósforo pouco reativas, constituindo ferramentas com potencial de aplicação em viveiros florestais para a promoção do crescimento de mudas.

**Palavras-chave:** Solubilização de fosfato, sideróforo, pH, acidez titulável.

## ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA FROM THE EUCALYPTUS RHIZOSPHERE

### ABSTRACT

Eucalyptus plants need adequate fertilization to achieve better productivity and wood quality. In general, eucalyptus plantations are established in soils of low fertility, where soil microbial populations can significantly contribute to the availability of nutrients to plants, especially those with greater demand, such as N and P. Plant growth-promoting bacteria can contribute to plant growth and development through different mechanisms that promote growth. The objective of this work was to isolate potentially plant growth promoting bacteria (PGPB) from the eucalyptus rhizosphere, to taxonomically characterize the isolates obtained and to study the expression of mechanisms for promoting plant growth *in vitro*. The isolation of potential PGPB was carried out using rhizospheric soil of *Eucalyptus grandis* plants in culture media designed for diazotrophic prokaryotes (LGI, JNFB, JMV, LGIP and NFB) aiming at obtaining isolates with the capacity to express one or more biochemical mechanisms of plant growth promotion. After isolation in pure culture, 51 isolates were characterized by the Gram staining technique and identified by the MIDI method. 24% of the obtained cultures were isolated in LGP medium; in JNFB, 24%; in the media JMV, LGIP and NFB were isolated, respectively, 30, 8 and 14% of the cultures. The isolates obtained belong to the genera *Ralstonia*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paenebacillus*, *Staphylococcus*, *Virgibacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. Seventy-eight percent of the isolates were able to solubilize calcium and aluminum phosphate. For the production of siderophores, 96% produced a positive result. Calcium phosphate solubilization values in NBRIP medium ranged from 24.84 to 178.48 mg L<sup>-1</sup>. The most efficient isolate solubilised 17.86 % of the P tricalcium phosphate. For aluminum phosphate, the solubilization values obtained ranged from 7.68 to 29.68 mg L<sup>-1</sup>. The most efficient isolate solubilized 2.38% of the aluminum phosphate. In addition to the diazotrophic activity, confirmed by literature reports, the cultures obtained showed the ability to solubilize low reactive phosphorus sources, constituting tools with potential application in forest nurseries to promote the growth of seedlings.

Keywords: Phosphate solubilization, siderophore, pH, titratable acidity.

## 1. INTRODUÇÃO

Os plantios de eucalipto necessitam de adequada adubação para garantir a produtividade e a qualidade da madeira (Abreu-Junior *et al.*, 2017; Bordron *et al.*, 2019). No entanto, a eficiência dos adubos aplicados ao solo depende de vários fatores, a exemplo da idade das árvores, da época de aplicação, da dose, da frequência de aplicação e do tipo de fertilizante. Os principais nutrientes básicos para o crescimento do eucalipto são o potássio, cálcio, magnésio, fósforo e nitrogênio, sendo o último um dos mais importantes (Andrade *et al.*, 1994; Sette *et al.*, 2014).

Os microrganismos promotores de crescimento (MPCP) são definidos como aqueles que se encontram em interação com plantas em suas diversas estruturas, promovendo ganhos na produção de biomassa vegetal (Glick, 2012; OROZCO-Mosqueda *et al.*, 2018). Dentre os microrganismos promotores de crescimento, encontram-se as bactérias fixadoras de nitrogênio e as solubilizadoras de fosfato.

O nitrogênio é elemento essencial para as plantas. A deficiência desse nutriente pode afetar o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade das espécies vegetais (Thilakarathna *et al.*, 2016). A entrada de nitrogênio nos ecossistemas naturais pode ocorrer por deposição atmosférica, por deposição de serapilheira, pela aplicação de fertilizantes e pela fixação biológica de N. A entrada pela deposição de serapilheira envolve a queda de componentes senescentes do vegetal e posterior decomposição desses resíduos (Caldeira *et al.*, 2008; Vieira *et al.*, 2009; Lewis *et al.*, 2011). A fixação biológica de nitrogênio pode ser realizada por microrganismos de vida livre ou por aqueles que mantêm simbioses associativas ou obrigatórias com as raízes das plantas. A fixação biológica de nitrogênio associativa ocorre principalmente na rizosfera (Johnston-Monje, 2011; Berg *et al.*, 2013; Bragina *et al.*, 2013).

A fixação biológica de nitrogênio é realizada somente por microrganismos procariotos, denominados diazotróficos (Mitchell *et al.*, 2018). Para realização do processo, há a atuação do complexo enzimático da nitrogenase, o qual consiste em duas enzimas diferentes, a dinitrogenase redutase e a dinitrogenase (Igarashi e Seefeldt, 2003). O processo de fixação biológica de nitrogênio é importante, haja vista que as plantas não conseguem acessar o nitrogênio na forma gasosa (N<sub>2</sub>) para a nutrição. Por outro lado, as bactérias diazotróficas associadas às plantas fixam nitrogênio atmosférico e transferem esse nutriente para o hospedeiro, suprindo-o com quantidades satisfatórias do nutriente (Okumura *et al.*, 2011; Bárbaro-Torneli *et al.*, 2017). Diante disso, as interações entre as raízes das plantas e as bactérias associativas fixadoras de nitrogênio tem sido alvo de muitas pesquisas visando

elucidar a ocorrência de fixação de N<sub>2</sub>, a promoção de crescimento vegetal, bem como os efeitos dessa atividade sobre outras propriedades do solo (Moreira *et al.*, 2010).

Os mecanismos de solubilização de fósforo dependem do tipo de material que é encontrado no solo, sejam formas orgânicas ou inorgânicas do nutriente. A solubilização de fosfato é processo principalmente biológico, onde os microrganismos têm papel chave, já que são os responsáveis pela produção e liberação dos agentes que atuam no processo (Alori *et al.*, 2017; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2018). O mecanismo de produção de sideróforos sintetizados pelos MPCP permitem a assimilação não redutiva do ferro, formando complexo quelante-metal que transporta o ferro até as células das raízes, onde, uma vez incorporado, o elemento é liberado por redução. Os sideróforos dividem-se em hidroxamatos, catecolatos e carboxilatos (Raza e Shen, 2010; Kumar *et al.*, 2018).

A utilização de BPCV na cultura do eucalipto pode aportar benefícios diretos e indiretos para a produtividade dos plantios. Idealmente, os isolados bacterianos com potencial de uso no setor produtivo devem agregar um ou mais de um mecanismo de promoção de crescimento com vistas a se obter o máximo de ganhos em produtividade com a utilização desses microrganismos (Miguel *et al.*, 2016). Assim o objetivo deste trabalho foi o de isolar bactérias potencialmente promotoras de crescimento vegetal (BPCV) da rizosfera de eucalipto, caracterizar taxonomicamente os isolados obtidos e estudar a expressão de diferentes mecanismos de promoção de crescimento vegetal *in vitro*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Localização do experimento, coleta de solo e isolamento de bactérias rizosféricas

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Ecologia Microbiana do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, localizado no prédio do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária da UFV.

Para o isolamento de bactérias promotoras de crescimento vegetal com o mecanismo de fixação biológica de nitrogênio, o solo rizosférico foi coletado em áreas distintas, cultivadas com *Eucalyptus grandis*, com diferentes idades: a) Setor de Silvicultura da UFV, com plantas com oito anos de idade (S 21° 01 741'; W 042° 34 258'); b) Distrito de Santo Antônio do Rio Preto, Mirai, MG, com rebrota de um ano (S 21° 01 638'; W 042° 34 156') e c) no mesmo distrito, com árvores de oito anos de idade (S 21° 01 698'; W 042° 33 842'). O tamanho de cada parcela amostral foi de 36 x 36 m, com espaçamento entre as árvores de 3 x 3 m. Em cada parcela, foram escolhidas aleatoriamente três árvores ao redor das quais foram realizadas as amostragens do solo até a profundidade de 10 cm. Quatro pontos equidistantes de um metro do

tronco de cada árvore foram marcados e as raízes coletadas com auxílio de uma pá de jardinagem. Definiu-se como solo rizosférico aquele que permanece aderido às raízes após forte agitação das raízes. O solo rizosférico foi coletado com espátula esterilizada. As porções de solo rizosférico coletadas nos quatro pontos foram misturadas constituindo uma amostra composta. As amostras compostas foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório em caixa de isopor com gelo. No laboratório, as amostras foram mantidas sob refrigeração a 10 °C. Uma amostra composta de solo de cada área das coletas foram também realizadas para a caracterização físico-química do solo conforme método descrito pela Embrapa (2009) [Tabela 1].

## 2.2. Isolamento de bactérias rizosféricas diazotróficas

Dez gramas de solo rizosférico foram acondicionados em frascos Erlenmeyer de 250 mL seguido da adição de 90 mL de solução salina (NaCl a 0,85%). Os frascos foram mantidos sob agitação de 150 rpm, à temperatura ambiente, por 1 h (Döbereiner *et al.*, 1995; Kuklinsky-Sobral *et al.*, 2004). Após o período de agitação, uma alíquota de 1 mL da suspensão do solo foi diluída em 9 mL de solução salina e, em seguida, os tubos foram agitados vigorosamente. Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas decimais até  $10^{-6}$ , em solução salina, e alíquotas de 100  $\mu$ L das diluições foram inoculadas, em triplicata, em tubos de rosca contendo 15 mL dos meios semi-específicos JNFb [5 g L<sup>-1</sup> de ácido málico; 0,6 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1,8 g L<sup>-1</sup> de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,2 g L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,1 g L<sup>-1</sup> de NaCl; 0,02 g L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 4 mL L<sup>-1</sup> de Fe.EDTA (solução 1,64%); 2 mL L<sup>-1</sup> de azul de bromotimol (0,5%); 2 mL L<sup>-1</sup> de solução de micronutrientes (0,2 g L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 0,235 g L<sup>-1</sup> de MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,28 g L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0,008 g L<sup>-1</sup> de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O); 4,5 g L<sup>-1</sup> de KOH; 1,9 g L<sup>-1</sup> da ágar; pH 5,8], NFB [5 g L<sup>-1</sup> de ácido málico; 0,6 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,2 g L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,1 g L<sup>-1</sup> de NaCl; 0,02 g L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 4 mL L<sup>-1</sup> de Fe.EDTA (solução 1,64%); 2 mL L<sup>-1</sup> de azul de bromotimol (0,5%); 2 mL L<sup>-1</sup> de solução de micronutrientes (0,2 g L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 0,235 g L<sup>-1</sup> de MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,28 g L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0,008 g L<sup>-1</sup> de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O); 1 mL Solução de vitaminas (10mg de biotina e 20mg de pirodoxol-HCl); 4,5 g L<sup>-1</sup> de KOH; 1,8 g L<sup>-1</sup> da ágar; pH 6,8], LGI [5 g L<sup>-1</sup> de sacarose; 0,6 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1,8 g L<sup>-1</sup> de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,2 g L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,02 g L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 1 mL L<sup>-1</sup> de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O; 2 mL L<sup>-1</sup> de azul de bromotimol (0,5%); 1,8 g L<sup>-1</sup> da ágar; pH 6,2], LGI-P [5 g L<sup>-1</sup> de sacarose; 0,6 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1,8 g L<sup>-1</sup> de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,2 g L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,02 g L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 1 mL L<sup>-1</sup> de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O; 2 mL L<sup>-1</sup> de azul de bromotimol (0,5%); 1 mL Solução de vitaminas (10mg de biotina e 20mg de pirodoxol-HCl); 1,6 g L<sup>-1</sup> da ágar; pH 5,5], JMV [5 g L<sup>-1</sup> de manitol; 0,6 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1,8 g L<sup>-1</sup> de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;

0,2 g L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,1 g L<sup>-1</sup> de NaCl; 0,02 g L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 4 mL L<sup>-1</sup> de Fe.EDTA (solução 1,64%); 2 mL L<sup>-1</sup> de azul de bromotimol (0,5%); 2 mL L<sup>-1</sup> de solução de micronutrientes (0,2 g L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 0,235 g L<sup>-1</sup> de MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,28 g L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0,008 g L<sup>-1</sup> de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O); 1mL Solução de vitaminas (10mg de biotina e 20mg de pirodoxol-HCl); 4,5g L<sup>-1</sup> de KOH; 3,5 g L<sup>-1</sup> de ágar; pH 4,2]. Os tubos foram incubados a 28 °C em BOD por 7 dias. Após a confirmação positiva da presença de bactéria fixadora de nitrogênio no tubo de rosca, observado por meio da formação de película microbiana fina da metade para cima do meio, uma alçada desse material foi retirada e transferida para placas de Petri contendo o mesmo meio, porém com a consistência sólida. Nesse momento, foram realizadas estrias simples para a obtenção de colônias isoladas. As placas foram incubadas em BOD a 28 °C até o aparecimento das colônias (cerca de 48 h). Uma colônia isolada foi usada para retirada de material com o auxílio de uma agulha para a inoculação em picada de tubos com meio semi-sólido. Os tubos foram incubados nas mesmas condições anteriores e a formação da película microbiana confirmada pela segunda vez. Após o aparecimento da película, os microrganismos foram reisolados novamente, por meio de estrias simples, em placas de Petri com os meios sólidos BDA e BDA + Vermelho Congo com o intuito de confirmar o isolamento de culturas puras e a ausência de contaminantes. A similaridade das colônias e a produção de exopolissacarídeos foram observadas. Após esse passo, quando houve a observação de colônias dissimilares, o procedimento de isolamento foi repetido, averiguando-se a formação de película e o estriamento das culturas em meio sólido. Em seguida, as culturas puras foram inoculadas em 50 ml de caldo batata-dextrose em frasco de Erlenmeyer de 125 mL e cultivadas *overnight*, a 28 °C e com agitação de 150 rpm. Posteriormente, 1,7 mL das culturas foi acrescido de 0,3 mL de glicerol em microtubos, sendo congeladas em nitrogênio líquido e mantidas em ultrafreezer a -80 °C.

## **2.3. Caracterização fenotípica**

### **2.3.1. Identificação de bactérias potencialmente fixadoras de nitrogênio**

A identificação de bactérias rizosféricas potencialmente fixadoras de nitrogênio foi realizada segundo Döbereiner *et al.* (1995). Para tanto, as bactérias isoladas foram inoculadas em meio semi-sólido JNFb, NFB, LGI, LGI-P e JMV, sem a presença de nitrogênio, e incubadas a 28 °C por 8 dias. O resultado positivo foi determinado pela formação de halo horizontal de crescimento bacteriano no interior do meio de cultura.

### **2.3.2. Coloração de Gram**

A coloração de Gram foi realizada de acordo com o método descrito por Cappuccino e Sheman (1987) com modificações. Este método consiste no tratamento sucessivo de um esfregaço bacteriano, fixado pelo calor, com os reagentes cristal violeta por um minuto e em seguida, utilizando-se uma piseta, o excesso de corante foi lavado com água destilada; posteriormente, foi adicionada a solução de lugol sobre o esfregaço, com tempo de contato de um minuto; o excesso de lugo foi lavado com água destilada, seguido do tratamento com etanol a 95%. Em seguida, o esfregaço foi corado com fucsina por 30 segundos. As lâminas foram então lavadas com água destilada, secas ao ar e observadas ao microscópio para averiguação do resultado da coloração de Gram.

### **2.3.3. Identificação das bactérias rizosféricas pelos perfis de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME - MIDI)**

Os perfis FAME foram obtidos por saponificação, metilação e extração seguindo o protocolo do sistema MIDI (Microbial Sistema de Identificação, Newark, NJ) (SASSER, 2006). Os isolados foram cultivados em placas de meio TSB-ágar por 24 h a 28 °C por duas vezes sequenciais a fim de garantir a homogeneidade de crescimento das células. Aproximadamente 40 mg da cultura foi colhida com auxílio de uma alça de inoculação e transferida para tubo de ensaio de 13 x 100 mm seguido da adição de 1 ml de reagente de saponificação. Os tubos foram selados firmemente com tampa de rosca forrada de teflon e agitados por 5 a 10 s. Os tubos foram incubados em banho-maria a 100 °C durante 5 min e, então, resfriados ligeiramente, agitados em vórtex por 10 s e incubados a 100 °C por mais 25 min em banho-maria. Em seguida, cada tubo recebeu 2 ml do reagente de metilação, sendo tampados firmemente e agitados em vórtex por 10 s. Posteriormente, foram colocados em banho-maria a 80 °C por 10 min. Em seguida, 1,25 ml de reagente de extração foi adicionado aos tubos resfriados seguidos por movimentos suaves em mesa agitadora por 10 min. A fase inferior foi removida e descartada usando-se pipeta de Pasteur de vidro. Finalmente, 3 ml de reagente de base foram adicionados à fase superior remanescente nos tubos, seguido de homogeneização em mesa agitadora por 5 min. A fase superior do solvente foi transferida para frascos de 2 mL para análise de ácidos graxos. A análise foi conduzida em sistema de cromatografia gasosa Agilent 6890, utilizando coluna capilar (50 m x 0.2 mm) de (5%-fenil)-metilpolisiloxano, acoplada a detector de ionização em chama. Antes da injeção de amostras, um padrão de calibração (Rapid Calibration Standard, contendo metil-éster de ácidos graxos de 9 a 20 carbonos de extensão) foi analisado pelo sistema, a fim de padronizar o tempo de retenção dos ácidos graxos. Posteriormente, as

amostras foram injetadas utilizando-se o método RTSBA6 do sistema, que identifica e quantifica de forma relativa a composição de FAMES obtidos no preparo da amostra e comparando os resultados ao banco de dados Sherlock. Os isolados foram identificados com base no valor do índice de similaridade: quanto mais próximo de 1,0, maior é a probabilidade de que o organismo isolado seja similar ao organismo identificado no banco de dados.

#### **2.3.4. Caracterização de bactérias solubilizadoras de fosfato**

Inicialmente, testou-se a capacidade dos isolados bacterianos em solubilizar fosfato de acordo com o método descrito por Rodriguez *et al.*, (2000) e Verma *et al.*, (2001). Para tal, as culturas bacterianas foram ativadas em caldo dextrose-batata a 28 °C por 24 h. Com o auxílio de uma alça de repicagem, foram feitas três picadas de cada cultura em placas de Petri contendo 25 mL de meio NBRIP (10 g L<sup>-1</sup> de glicose; 5 g L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>Cl; 1 g L<sup>-1</sup> de NaCl; 1 g L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 15 g L<sup>-1</sup> de ágar; pH 7) contendo 4 g L<sup>-1</sup> de CaHPO<sub>4</sub> ou Al(PO<sub>4</sub>). As placas foram incubadas a 28 °C por 72 h e, em seguida, verificou-se o aparecimento de halo de solubilização no entorno das colônias, indicativo da capacidade de solubilização de fosfatos.

#### **2.3.5. Caracterização da produção de sideróforos**

A produção de sideróforos foi verificada por meio da utilização de placas de Petri contendo o meio Chromeazuroil Agar Assay (CAS), de acordo com o método descrito por Caballero-Mellato *et al.*, (2007). Os isolados foram cultivados em frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 50 ml de meio líquido CAA, suplementado com três gramas de ácido succínico, seguido da incubação a 28°C e 150 rpm por 5 dias. Posteriormente, os isolados foram inoculados com auxílio de uma laça de repicagem em três picadas equidistantes em placa de Petri contendo 25 mL de meio sólido CAS-CAA, e incubados a 28 °C por 5 dias. A presença de halos de cor laranja ao redor das picadas indica a produção de sideróforos.

#### **2.3.6. Solubilização de fosfato de cálcio [Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] e fosfato de alumínio [Al(PO<sub>4</sub>)] em meio NBRIP**

A avaliação da capacidade dos isolados bacterianos obtidos em solubilizar fosfato de cálcio [Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] e fosfato de alumínio [Al(PO<sub>4</sub>)] foi realizada pela inoculação dos mesmos em tubos Falcon, de capacidade de 50 mL, com 25 mL de meio NBRIP (Nautiyal, 1999), contendo 4 g L<sup>-1</sup> de fosfato de cálcio ou fosfato de alumínio. Após a inoculação, os tubos foram incubados a 28 °C e 150 rpm, por cinco dias. O tratamento controle correspondeu a frascos contendo apenas meio NBRIP, com as respectivas fontes de P, mas sem a inoculação bacteriana. Após a incubação, os tubos Falcon foram centrifugados a 10.000 rpm por 3 min e, em seguida,

o sobrenadante foi filtrado em papel-filtro analítico com poros de 8 µm (Quanty – JP42). No sobrenadante filtrado foi avaliado o P solúvel utilizando-se o método descrito por Braga e Defelipo, (1974), pH e a acidez titulável foram determinados de acordo com Aroucha *et al.* (2010). O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 39 bactérias e 3 repetições de cada tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias agrupadas pelo teste *Scott knott* a 5 %.

### **2.3.7 Solubilização de FR por *Ralstonia pickettii* LEM 10 e *Stenotrophomonas maltophilia* LEM 36**

Frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 50 mL de meio NBRIP (NAUTIYAL, 1999) modificado, sem a fonte de P original, suplementado com 3g L<sup>-1</sup> dos FRs Gafsa, Itafós, Crandalita, Aipe, Abaeté, Patos, Catalão e Araxá, foram inoculados com 200 µL de culturas de *Ralstonia pickettii* LEM 10 e *Stenotrophomonas maltophilia* LEM a D.O de 0,6 e incubados a 28 °C e 150 rpm, por cinco dias em agitador horizontal. O tratamento controle corresponde a frascos contendo apenas meio NBRIP e o FRs, sem o inóculo. Controles sem a inoculação bacteriana foram também incluídos visando a determinação do P solubilizado por processos abióticos. Após o período de incubação, o sobrenadante foi coletado e centrifugado em tubos Falcon de 50 mL a 10.000 rpm por 3 min. Em seguida o sobrenadante foi filtrado em papel-filtro analítico com poros de 8 µm (Quanty – JP42) e utilizado para determinação de P solúvel (Braga e Defelipo, 1974), pH e acidez titulável (Aroucha *et al.* 2010). O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial duplo 2 x 8, com 2 isolados bacterianos e 8 tipos de FRs, com 3 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 %.

## **2.4 Métodos Analíticos**

O P solúvel no sobrenadante foi determinado por meio da leitura em espectrofotômetro pelo método do ácido ascórbico (Braga e Defelipo, 1974). O pH foi medido em potenciômetro de bancada. A acidez titulável foi determinada pelo método titulométrico: 1mL da amostra de sobrenadante foi titulada com NaOH)0,1 mol L<sup>-1</sup> na presença de fenolftaleína a 1 % como indicador de pH. Esse método mede o número de moles de H<sup>+</sup> de todas as formas dissociadas e não dissociadas presentes na solução (Aroucha *et al.*, 2010).

O cálculo de concentração de H<sup>+</sup>, expresso em mmol L<sup>-1</sup>, é descrito na Equação 1:

$$(1) \quad \text{Acidez Titulável (mmol L}^{-1}\text{)} = \frac{V_{\text{tit}}(\text{mL}) \cdot M_{\text{tit}}\left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right) \cdot f_c \cdot 1000}{V_{\text{amostra}}(\text{mL})}$$

Onde,  $V_{\text{tit}}$  é o volume de titulante gasto na titulação,  $M_{\text{tit}}$  é a concentração da solução de NaOH,  $f_c$  é o fator de correção da solução de NaOH e  $V_{\text{amostra}}$  é o volume de amostra utilizado na titulação.

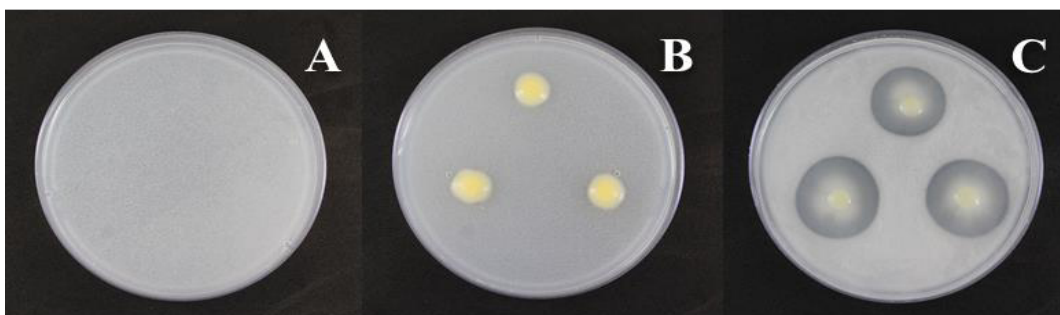
### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Isolamento e identificação de bactérias diazotróficas da rizosfera de *E. grandis*

Foram obtidos o total de 270 isolados, dos quais 50 foram confirmados como fixadores de nitrogênio pelas características culturais apresentadas nos meios de cultura semi-específicos (Tabela 2; Tabela 3). Nos meios LPG, JNFB, JMV, LGIP e NFB foram obtidos, respectivamente, 24, 24, 30, 8 e 14% dos isolados. A técnica de coloração de Gram revelou que 68,6 % dos isolados eram gram-negativos e 31,4%, gram-positivos (Tabela 2). Os principais gêneros identificados pela técnica do perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos foram *Ralstonia*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paenebacillus*, *Staphylococcus*, *Virgibacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* (Tabela 2).

#### 3.2. Teste de solubilização de fosfato tricálcico e de fosfato de alumínio em meio NBRIP

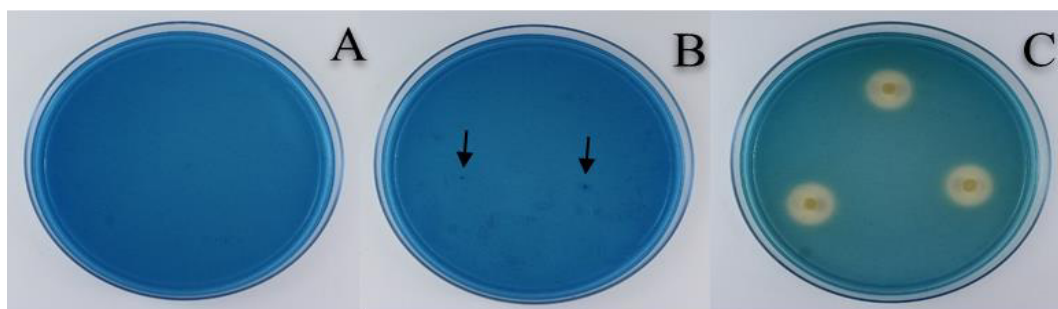
Dos 50 isolados obtidos, 39 (78 %) foram capazes de solubilizar tanto fosfato tricálcico quanto o fosfato de alumínio no meio NBRIP, fato evidenciado pelo aparecimento de halo de solubilização ao redor das colônias (Figura 1; Tabela 3). Os isolados que não solubilizaram nenhuma das fontes de P corresponderam a 22 % do total (Tabela 3).



**Figura 1.** Teste de solubilização de fosfato tricálcico em meio NBRIP por isolado bacteriano. (A) Placa controle, sem inoculação. (B); Colônias de isolado não solubilizador de fosfato. Notar a ausência de halo ao redor das colônias. (C) Colônias de isolado solubilizador de fosfato, mostrando o halo de solubilização.

### 3.3. Teste de produção de sideróforos

Quarenta e nove isolados foram capazes de produzir sideróforos, valor correspondente a 96 % das culturas avaliadas (Tabela 3). A produção de sideróforos foi constatada no meio CAS pelo aparecimento de halo amarelo ao redor da colônia (Figura 2).



**Figura 2.** Teste de produção de sideróforos em meio CAS. (A) Placa controle não inoculada. (B) Ausência de crescimento de isolado não produtor de sideróforos (setas) em meio CAS. Notar a ausência de halo ao redor da picada de inoculação (C) Colônias de isolado produtor de sideróforos. Notar o halo de clareamento ao redor das colônias formadas no meio CAS.

### 3.4. Solubilização de fosfato de cálcio ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) por bactérias fixadoras de nitrogênio em caldo NBRIP

A solubilização de fosfato tricálcio em caldo NBRIP variou de 24,84 a 178,48  $\text{mg L}^{-1}$  de P, valores que correspondem à solubilização de 2,48 a 17,86 % do P total contido na fonte (Tabela 4). O valor mais alto de P solúvel foi obtido no tratamento com *Stenotrophomonas maltophilia* LEM 36. Os valores de pH variaram de 4,46 a 5,66 e os de acidez titulável de 5,12 a 17,08  $\text{mmol H}^+ \text{L}^{-1}$  (Tabela 4). Observou-se correlação simples de Pearson negativa entre os valores de P solúvel e pH (-0,65) e positiva entre os valores de P solúvel e acidez titulável (0,716).

### 3.5. Solubilização de fosfato de alumínio $\text{Al}(\text{PO}_4)$ por bactérias fixadoras de nitrogênio em caldo NBRIP

A solubilização de fosfato de alumínio em caldo NBRIP variou de 7,68 a 29,68  $\text{mg L}^{-1}$  de P, ou seja, 0,18 a 2,38 % do P total contido nessa fonte (Tabela 5). O valor mais alto de P solúvel foi obtido no tratamento com *Ralstonia pickettii* LEM 10. Os valores de pH variaram de 3,0 a 5,56 e os de acidez titulável de 5,12 a 15,37  $\text{mmol H}^+ \text{L}^{-1}$  (Tabela 5). Observaram-se correlações simples de Pearson positivas entre os valores de P solúvel e pH (0,23) e entre os valores de P solúvel e acidez titulável (0,58).

### 3.6 Solubilização de FRs por *Stenotrophomonas maltophilia* LEM 10 e *Ralstonia pickettii* LEM 36

Ambos os isolados foram capazes de solubilizar as fontes de fosfato testadas. Em geral, os FR mais susceptíveis ao processo de solubilização foram: Itafós > Gafsa > Araxá > Abaeté > Aipe > Catalão > Patos > Crandalita (Tabela 6). Na média geral, não foram observadas diferenças significativas entre a capacidade de solubilização dos isolados LEM 10 e LEM 36 (Tabela 6). Os valores de P solúvel variaram para cada tipo de FR e isolado bacteriano (Tabela 1). Para o isolado LEM 10, os maiores valores de P solúvel foram encontrados para o FR de Abaeté, enquanto para o isolado LEM 36, o FR de Araxá foi o mais solubilizado (Tabela 6).

As médias gerais observadas para acidez titulável foram maiores para LEM 10 do que para o LEM 36, enquanto os valores de pH final no sobrenadante dos meios de cultura foram semelhantes entre si (Tabela 6). Observamos que para o tipo de fosfatos de rocha houve diferença significativa para o isolado LEM 10 para todos os fosfatos de rocha (Tabela 6). Em relação as bactérias comparadas com os fosfatos observamos uma diferença significativa para o fosfato de rocha Itafós e Aipe para LEM 10 e 36 respectivamente apresentando as seguintes médias: 15,37 e 8,20 mmol L<sup>-1</sup> sendo apresentado para esta variável analisada, no entanto apresentando diferenças significativas entre os isolados e os tipos de fosfatos avaliados.

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Isolamento e caracterização de bactérias diazotróficas da rizosfera de eucalipto

Neste estudo, foi possível obter isolados bacterianos diazotróficos a partir do solo rizosférico de plantas de *E. grandis* de sistemas de plantio de implantação e rebrota, com diferentes idades e provenientes de diferentes localidades. A capacidade diazotrófica dos isolados obtidos foi confirmada em meios específicos (Tabela 3). Os 51 isolados obtidos com a utilização dos meios semi-específicos LGI, JNFB, NFB, LGI-P e JMV representam nove gêneros e 13 espécies distintas. Os principais gêneros identificados pela técnica do perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME-MIDI) foram *Ralstonia*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paenebacillus*, *Staphylococcus*, *Virgibacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*. (Tabela 2). Os gêneros *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paenebacillus*, *Burkholderia* e *Pseudomonas* foram também isolados por Islam *et al.* (2012) em solo rizosférico de arroz utilizando meios semi-específicos de isolamento de bactérias diazotróficas. Observou-se que 68,4% dos isolados obtidos eram gram-negativos e 31,4%, gram-positivos. Esses dados corroboram estudos anteriores que indicam a predominância de

bactérias diazotróficas gram-negativas na rizosfera. Gaviria-Giraldo *et al.* (2018), isolando bactérias diazotróficas nos meios NFB, JNFB e LGI- P, obteve 32 isolados de bactérias diazotróficas, dos quais 18,75% eram gram-positivos e 81,25%, gram-negativos.

Do total de 51 isolados bacterianos diazotróficos obtidos, 78% apresentaram halo de solubilização de fosfato no ágar NBRIP contendo fosfato de cálcio e fosfato de alumínio (Figura 1; Tabela 3), confirmando a presença deste mecanismo de promoção de crescimento vegetal em grande parte das culturas (Tabela 3). Nos achados de Lima *et al.* (2018), foi constatado, também, que a presença do mecanismo de solubilização de P estava presente em 66% dos isolados bacterianos cultivados em meios contendo glicose como fonte de carbono. Oliveira *et al.* (2018) estudando isolamento de bactérias diazotróficas, constataram que 70% das estirpes de bactérias possuíam capacidade de solubilização inorgânica de fósforo (P). Esses dados confirmam a presença de microrganismos que exercem papéis importantes na ciclagem do P no solo rizosférico, solubilizando fosfatos inorgânicos e disponibilizando o P para as plantas (VERMA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2018). Bactérias solubilizadoras de fosfato são eficientes na disponibilização de P no solo, aumentando efetivamente o crescimento da planta e proporcionando melhor produtividade (Jayakumar *et al.* 2019).

Do total de isolados obtidos, 48 testaram positivo para a produção de sideróforos, apresentando halo amarelo ao redor das colônias no meio de teste. Dos isolados com resultado positivo, 96 % foram considerados eficientes na expressão desse mecanismo *in vitro* (Tabela 3). Os sideróforos são agentes quelantes de baixo peso molecular, capazes de complexar o ferro férrico, formando complexo de hidróxido férrico. Microrganismos produtores de sideróforos podem ser eficientes na promoção do crescimento de plantas e na atividade de biocontrole de fitopatógenos do solo (Kumar *et al.*, 2017). A produção de sideróforos é induzida quando há baixas concentrações de ferro no solo. Quando a disponibilidade do elemento é satisfatória, o ferro pode ser absorvido por outras vias, independentes da ação de sideróforos (Sandy e Butler, 2010; Schalk e Braud, 2011; Sinha e Parli, 2020). Kumar *et al.* (2017), estudando bactérias isoladas de solo rizosférico, também observou espécies com a capacidade de produção de sideróforos. No entanto, as percentagens de microrganismos que apresentam tal mecanismo de promoção do crescimento vegetal podem variar. No trabalho de Sinha e Parli (2020) foram obtidos isolados produtores de sideróforos em proporções que variaram de 45 a 53%, sugerindo que o tipo de solo, nível de fertilidade, a espécie vegetal, dentre outras características, influenciam as densidades populacionais desses microrganismos. Os resultados deste trabalho foram superiores aos citados.

#### 4.2. Solubilização de fosfato de cálcio [Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] por bactérias fixadoras de nitrogênio em meio NBRIP

Trinta e nove isolados mostraram-se capazes de solubilizar fosfatos *in vitro* (Tabelas 3, 4 e 5). Quando testados em meio NBRIP líquido suplementado com Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> foram observadas diferenças significativas entre os isolados para as médias de P solúvel, % de P solubilizado, acidez titulável e pH (Tabela 4 e 5). O isolado bacteriano mais eficiente em solubilizar fosfatos foi o *Stenotrophomonas maltophilia* LEM 36, com 178,48 de P solúvel. A eficiência na solubilização de fosfatos está relacionada com a quantidade e qualidade dos ácidos orgânicos produzidos pelos microrganismos (Mendes et al., 2014; Ghosh e Mandal, 2020; Mendes et al., 2020). Os valores de P solúvel obtidos em nosso trabalho são superiores aos obtidos por Emami *et al.* (2020) em experimentos de solubilização de fosfato tricálcio, com valores de somente 3,61 a 6,44 mg L<sup>-1</sup>. Son *et al.* (2006) obtiveram valores de P solúvel variáveis com a utilização de diferentes fontes de carbono, sendo a glicose a mais favorável, resultando em valores de 136 mg L<sup>-1</sup>. Ajustes na temperatura de incubação de 20 a 35°C aumentaram o P solúvel de 201 a 215 mg L<sup>-1</sup> (Son *et al.*, 2006). Aumento de temperatura elevada parece favorecer o processo de solubilização fosfato atingindo valores de P solúvel de 261,3 mg L<sup>-1</sup> (Mundra *et al.*, 2011). Assim, esse conjunto de dados, associado à diversidade de isolados obtidos neste trabalho, permite inferir a possibilidade de otimização das condições de cultivo e incubação no sentido de se melhorar a eficiência de solubilização de fosfatos dos isolados bacterianos obtidos.

Os valores de pH, medidos no sobrenadante do meio de cultura, variaram entre os grupos de isolados testados. Foram observadas correlações negativas entre o pH do meio e a solubilização de P, indicando que a acidificação do meio constitui um dos principais mecanismo de solubilização de fosfato de cálcio, além da quelatação de cátions por ácidos orgânicos (Collavino *et al.*, 2010). Os nossos valores de pH foram semelhantes aos encontrados por Collavino *et al.* (2010) e Spagnoletti *et al.* (2017), ambos estudando isolados bacterianos solubilizadores de fosfato de cálcio.

Os isolados bacterianos avaliados apresentaram médias de acidez titulável diferentes entre si. O valor mais alto de acidez titulável obtido foi de 17,08 mmol L<sup>-1</sup> (Tabela 4). O pH do meio depende da concentração de íons de hidrogênio livre, enquanto a acidez titulável indica a quantidade total de prótons disponíveis no meio de cultura e se relaciona com a quantidade de ácidos orgânicos secretados pelo microrganismo (Panda *et al.*, 2016). Em geral, os valores de P solúvel são diretamente proporcionais à acidez titulável. Bactérias tendem a ser menos

eficientes do que fungos na produção de ácidos orgânicos (Panda *et al.*, 2016; Mendes *et al.*, 2014; Mendes *et al.*, 2020). No entanto, os valores de acidez titulável encontrados neste trabalho são semelhantes à faixa de 11,6 a 26,9 mmol L<sup>-1</sup> encontrada por Mendes *et al.* (2014) em trabalhos com fungos filamentosos.

#### **4.3. Solubilização de fosfato de alumínio [Al(PO<sub>4</sub>)] por bactérias fixadoras de nitrogênio em meio NBRIP**

Os isolados bacterianos testados apresentaram diferenças significativas na capacidade de solubilização de Al(PO<sub>4</sub>), com grupos distintos definidos pelo teste Skott-Knott a 5 % para as variáveis P solúvel, % de P solubilizado, pH e acidez titulável (Tabela 5). O valor mais alto de P solúvel obtido correspondeu a 29,68 mgL<sup>-1</sup> (Tabela 5), sendo inferiores aos valores de P solúvel obtidos em meio com fosfato tricálcico. O processo de solubilização de fosfatos está relacionado com a capacidade do microrganismo de produzir ácidos orgânicos que diminuem o pH do meio e quelatam os cátions acompanhantes do fosfato com a concomitante liberação de ortofosfato no meio (Kalayu, 2019). Diferentemente dos resultados encontrados por Acevedo *et al.* (2014), fração considerável do conjunto de bactérias aqui obtidos foram capazes de solubilizar Al(PO<sub>4</sub>). Outros trabalhos (Panda *et al.*, 2016) também confirmaram a capacidade de isolados bacterianos em solubilizar Al(PO<sub>4</sub>), com valores de P solúvel (36,8 a 62,3 mg L<sup>-1</sup>) superiores aos aqui registrados. No trabalho de Hii *et al.* (2020), observou-se que bactérias isoladas de solos ácidos também tinham a capacidade de solubilizar Al(PO<sub>4</sub>), com valores finais de P solúvel na faixa de 27 e 40 mg L<sup>-1</sup>. Os valores de P solúvel aqui registrados são superiores aos encontrado por Collavino *et al.* (2010) de 20 µg ml<sup>-1</sup>.

Os isolados bacterianos testados reduziram o pH do meio e aumentaram a acidez titulável durante o período de incubação. Em alguns casos, o pH inicial do meio tem efeito significativo na solubilização do fosfato e no crescimento microbiano (Mundra *et al.*; 2011), sendo que os mais altos valores de P solúvel foram obtidos quando o pH inicial do meio foi de 7,0. Segundo Hii *et al.* (2020) em seu estudo com diferentes isolados solubilizadores de fosfato, houve redução no pH do meio de cultura de 5,54 para 3,48 e 3,71. No presente trabalho, o valor de pH mais baixo obtido ao final da incubação foi de 4,266, correlacionando-se negativamente com o P solúvel. Observou-se correlação positiva entre o P solúvel e a acidez titulável, indicando que, para o Al(PO<sub>4</sub>), a acidificação do meio e produção de ácidos orgânicos são também mecanismos importantes para a solubilização dessa fonte de P. Os valores de acidez titulável medidos encontram-se próximos aos registrados para fungos filamentosos por Mendes *et al.* (2014).

A detecção de mecanismos de promoção de crescimento *in vitro* é essencial para entender as interações entre a planta hospedeira e microrganismos rizosféricos. No entanto, a expressão de um ou mais mecanismos nessas condições não é garantia que estes sejam operacionais *in planta*. Assim, estudos adicionais deverão ser conduzidos para a confirmação da capacidade de promoção de crescimento dos isolados obtidos na presença da planta hospedeira.

No conjunto, as bactérias diazotróficas aqui isoladas constituem elementos importantes para o entendimento das interações planta-microrganismo que operam em nível de rizosfera, podendo gerar produtos biotecnológicos que contribuam para o melhor aproveitamento dos adubos aplicados ao solo e maior produtividade dos plantios de eucalipto.

#### **4.4 Solubilização de FRs por *Stenotrophomonas maltophilia* LEM 10 e *Ralstonia pickettii* LEM 36**

Os isolados e os tipos de fosfatos que foram avaliados para a solubilização os que obtiveram resposta significativa para a variável P-solúvel, tendo uma variação de 36,30 a 86,85mg L<sup>-1</sup> e apresentado também um resultado de % de solubilização de 10,99 a 35,84% e uma acidez titulável, sendo para ambos os isolados de 15,37 e 8,20 mmol L<sup>-1</sup> respectivamente e para os dados de pH foi observado uma queda em relação ao controle que foi de 6,90 e o isolados bacterianos apresentaram uma variação de pH de 2,87 a 4,44 (Tabela 1). Estudos relatam que os microrganismos solubilizadores de fosfatos aumentam a disponibilidade de P-solúvel, por produzir ácidos orgânicos que diminuem o pH tendo um maior potencial de solubilização fosfatos (Satyaprakash *et al.*, 2017; Kalayu, 2019). Segundo achados de Xu *et al.* (2019) utilizando meios para inocular com bactérias solubilizadora de fosfato de rocha, obteve um aumento significativo na concentração de P-solúvel de 99,57 mg L<sup>-1</sup> e 139,10 mg L<sup>-1</sup>. Nos achados de Jha *et al.* (2018) em seus estudos com bactérias solubilizadora de fosfato de rocha, obteve um resultado significativo para um dos seus isolados de rizobactérias que apresentou uma alta atividade de solubilização de P de 386,25 µg ml<sup>-1</sup>. Os nossos resultados foram inferiores aos encontrados por estas pesquisas citadas acima. Esta variação de pH em relação ao controle e os isolados bacterianos é uma resposta eficaz para a solubilização de fosfato, é normal em muitas das vezes apresentar uma redução em relação ao controle, nessa condição de pH ácido que é um dos principais mecanismo de solubilização de fosfato, devido a produção microbiana de ácidos orgânicos ou pela liberação de prótons (Selvi *et al.*, 2017; Kalayu, 2019). Os resultados encontrados por Xu *et al.* (2019) estudando isolados bacterianos solubilizadores de fosfato de rocha, observando em dois isolados uma queda significativa no pH, apresentando

os seguintes achados de 2,61 e 2,51. Os resultados encontrados nesta pesquisa são inferiores aos encontrados neste estudo. Nos achados de Mendes *et al.* (2014b) estudando a solubilização de diferentes fosfatos por microrganismo, obteve uma resposta significativa para os fosfatos de rocha Araxá e Catalão que apresentaram uma queda no pH de 2,7 a 3,4 e 2,4 a 3,0, respectivamente. Corroborando com os nossos achados que também foi observado uma queda nos resultados de pH. A acidez titulável indica a quantidade total de prótons disponíveis no meio de cultura devido à secreção de ácido orgânico pelas bactérias (Panda *et al.*, 2016). Segundo Wei *et al.* (2018), os aumentos notáveis da acidez estão relacionados ao fato de ocorrer intensa atividade produtora de ácido orgânicos microbiano através do processo de solubilização que pode acelerar a solubilização de P-insolúvel. Nos achados de Zeng *et al.* (2016), trabalhando com identificação e caracterização de bactérias solubilizadora de fosfato isolados da rizosfera, obteve um aumento da acidez titulável máxima de 41,03 mmol L<sup>-1</sup>. Neste estudo obtivemos resultados inferiores aos encontrados por este citado. Nos achados de Wei *et al.* (2018), em seu estudo de processo de compostagem utilizando bactérias solubilizadoras de fosfato observou em seus valores de acidez uma variação de 1,2 mmol L<sup>-1</sup> a 6,9 mmol L<sup>-1</sup>. Os nossos resultados apresentaram também uma variação, sendo superiores aos encontrados por este estudo.

## 5. CONCLUSÃO

O solo rizosférico da cultura do eucalipto contém bactérias diazotróficas cultiváveis. Além de possuírem a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, expressam *in vitro* mecanismos de produção de sideróforo e de solubilização de fosfato. Os isolados bacterianos obtidos são diversos e compreendem 9 gêneros e 13 espécies distintas, sendo na maioria bactérias gram-negativas. Alguns isolados têm a capacidade de solubilizar tanto o Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> e quanto AlPO<sub>4</sub>. Os isolados LEM 10 e LEM 36, de *Ralstonia pickettii* e *Stenotrophomonas maltophilia* apresentam capacidades distintas de solubilizar os FR de Patos, Catalão, Araxá, Itafós Abaeté, Gafsa e Aipe a Crandalita. Os isolados obtidos tem o potencial de promover o crescimento do eucalipto pela expressão dos mecanismos de promoção de crescimento avaliados *in planta*. Estudos adicionais deverão ser realizados para avaliar a capacidade de promoção do crescimento vegetal dos isolados obtidos em casa de vegetação.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

ABRAF, Anuário Estatístico. **Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas**. Brasília: ABRAF, 2013. 142p.

ABREU-JUNIOR, C. H., FIRME, L. P., MALDONADO, C. A. B., de MORAES NETO, S. P., ALVES, M. C., MURAOKA, T., BOARETTO, A. E., GAVA, J. L., Ele, Z., NOGUEIRA, T. A. R. CAPRA, G. F. Fertilization using sewage sludge in unfertile tropical soils increased wood production in Eucalyptus plantations. **Journal of Environmental Management**, v. 203, p. 51-58, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.07.074>

ACEVEDO, E., GALINDO-CASTAÑEDA, T., PRADA, F., NAVIA, M., ROMERO, H. M. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Colombia. **Applied Soil Ecology**, v. 80, p. 26-33, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.03.011>

ANDRADE, A. D., VITAL, B., BARROS, N. D., DELLA LUCIA, R. M., CAMPOS, J., VALENTE, O. Efeitos da fertilização mineral e da calagem do solo na produção e na qualidade da madeira de eucalipto. **Revista Árvore**, v. 18, p. 69-78, 1994.

AROUCHA, E. M. M., GOIS, V. A., LEITE, R. H. L., SANTOS, M.C.A., SOUZA, M.S. Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, p. 01-04, 2010.

AZZIZ, G., BAJSA, N., HAGHJOU, T., TAULÉ, C., VALVERDE, Á., IGUAL, J. M., ARIAS, A. Abundance, diversity and prospecting of culturable phosphate solubilizing bacteria on soils under crop–pasture rotations in a no-tillage regime in Uruguay. **Applied Soil Ecology**, v. 61, p. 320-326, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.10.004>

BACHA, C. J. C., BARROS, A. L. M. Reflorestamento no Brasil: evolução recente e perspectivas para o futuro. **Scientia Florestalis**, v.1, p. 191-203, 2004.

BÁRBARO-TORNELI, I. M., FINOTO, E. L., TOKUDA, F. S., MEDEIROS, C. N. F., GASPARINO, A. C., BORGES, W. L. B., CASTELETI, M. L. Influência de modos de aplicação aa co-inoculação no desempenho agrônômico de Soja. **Nucleus**, v.3, p.105-114, 2018.

BELLÉ, C., GROTH, M. Z., KASPARY, T. E., KHUN, P. R., KULCZYNSKI, S. M. Reprodução de *Pratylenchus* spp. em espécies de eucalipto (*Eucalyptus* spp.). **Nematropica**, v. 48, p. 45-49, 2018.

BERG, A., DANIELSSON, Å., SVENSSON, B. H. Transfer of fixed-N from N<sub>2</sub>-fixing cyanobacteria associated with the moss *Sphagnum riparium* results in enhanced growth of the moss. **Plant and soil**, v. 362, p. 271-278, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1278-4>

BHUYAN, D. J., VUONG, Q. V., CHALMERS, A. C., VAN ALTENA, I. A., BOWYER, M. C., SCARLETT, C. J. Phytochemical, antibacterial and antifungal properties of an aqueous extract of *Eucalyptus microcorys* leaves. **South African Journal of Botany**, v.112, p.180-185, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.030>

BORDRON, B., ROBIN, A., OLIVEIRA, I. R., GUILLEMOT, J., LACLAU, J. P., JOURDAN, C., PLASSARD, C. Fertilization increases the functional specialization of fine roots in deep soil layers for young *Eucalyptus grandis* trees. **Forest Ecology and Management**, v.431, p. 6-16, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.03.018>

BRAGA, J. M., DEFELIPO, B. V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e material vegetal. **Revista Ceres**, v. 21, p. 73-85, 1974.

BRAGINA, A., BERG, C., MÜLLER, H., MOSER, D., BERG, G. Insights into functional bacterial diversity and its effects on Alpine bog ecosystem functioning. **Scientific Reports**, v.3, p. 1-8, 2013. <https://doi.org/10.1038/srep01955>

BRITO, J. O. O uso energético da madeira. **Estudos Avançados**. v. 21, p.185-193, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142007000100015>

CABALLERO-MELLADO J., ONOFRE-LEMUS J., ESTRADA-DE LOS SANTOS P., MARTÍNEZ-AGUILAR L. The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing *Burkholderia* species with capabilities of interest for agricultura and bioremediation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.73 p. 5308-5319, 2007. [https://doi.org/10.1128 / AEM.00324-07](https://doi.org/10.1128/AEM.00324-07)

CALDEIRA, M.V.W., VITORINO, M.D., SCHAAT, S.S., MORAES, E., BALBINOT, R. Quantificação de Serrapilheira e de nutrientes em uma floresta ombrófila densa. **Semina: Ciência Agrária**. v. 29, p.53-68, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602014000100002>

CAPPUCCINA, J. G., SHERMAN, N. **Microbiology, a laboratory manual**. Benjamim/Cummings Publishing Company, Inc., 1987, 458 p.

COLLAVINO, M. M., SANSBERRO, P. A., MROGINSKI, L. A., AGUILAR, O. M. Comparison of *in vitro* solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. **Biology and Fertility of Soils**, v. 46, p. 727-738, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00374-010-0480-x>

DÖBEREINER, J., BALDANI, V. L. D., BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Embrapa SPI, 1995. 60p.

EMAMI, S., ALIKHANI, H. A., POURBABAEE, A. A., ETESAMI, H., MOTASHAREZADEH, B., SARMADIAN, F. Consortium of endophyte and rhizosphere phosphate solubilizing bacteria improve phosphorous use efficiency in wheat cultivars in phosphorus deficient soils. **Rhizosphere**, v. 14, p. 100-196, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100196>

EMBRAPA. **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes**. 2º ed. Brasília DF: Embrapa. 2009. 627p

ESPAÑA, M. D., ARBOLEDA, J. W., RIBEIRO, J. A., ABDELNUR, P. V., GUZMAN, J. D. Eucalyptus leaf byproduct inhibits the anthracnose-causing fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. **Industrial Crops and Products**, v.108, p. 793-797, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.002>

ETESAMI H, MAHESHWARI DK. Ecotoxicology and environmental safety use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. Elsevier. v. 156, p. 225–246, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>

FERREIRA, M., SANTOS, P. E. T. Melhoramento genético florestal dos *Eucalyptus* no Brasil breve histórico e perspectivas. **Anais**. Colombo: EMBRAPA, 1997. p.14-34

GAMA-RODRIGUES, E.F., BARROS, N.F., GAMA-RODRIGUES, A.C., SANTOS, G.A. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. **Revista Brasileira da Ciência do Solo**. v. 29, p. 893-901, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832005000600007>

GAVIRIA-GIRALDO, J., RESTREPO-FRANCO, G. M., Galeano-Vanegas, N. F., HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, Diazotrophic bacteria with activity promoting vegetable growth in *Daucus carota* L. **Revista Ciencia y Agricultura**, v. 15, n. 1, p. 19-27, 2018. <https://doi.org/10.19053/01228420.v15.n1.2018.7753>

GLICK, B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, v.2012, p. 1-15, 2012. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>

GONZÁLEZ, N., ELISSETCHE, J., PEREIRA, M., FERNÁNDEZ, K. Extraction of polyphenols from *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus*: Experimental kinetics, modeling and evaluation of their antioxidant and antifungal activities. **Industrial Crops and Products**, v.109, p. 737-745, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.038>

GURDEEP, K. A. U. R., REDDY, Mondem Sudhakara. Effects of phosphate-solubilizing bacteria, rock phosphate and chemical fertilizers on maize-wheat cropping cycle and economics. **Pedosphere**, v. 25, n. 3, p. 428-437, 2015. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)30010-2](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)30010-2)

GHOSH, R., MANDAL, N. C. Use of plant growth–promoting *Burkholderia* species with rock phosphate–solubilizing potential toward crop improvement. In: SINGH, J. S., VIMAL, S. R. **Microbial services in restoration ecology**. [s/l]: Elsevier, 2020. p. 139-156. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819978-7.00010-5>

HII, Y. S., SAN CHAN, Y., LAU, S. W., MICHAEL, D. Isolation and characterisation of phosphate solubilizing microorganisms from peat. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 26, p.101-643, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101643>

HSING, T. Y., PAULA, N. F. D., PAULA, R. C. D. Características dendrométricas, químicas e densidade básica da madeira de híbridos de *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, v. 26, p.273-283, 2016. <https://doi.org/10.5902/1980509821119>

IBÁ, relatório 2017. **Indústria Brasileira de Árvores**. Brasília, 2017. 80p. Disponível em: < [https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA\\_RelatorioAnual2017.pdf](https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf) >. Acessado em: 20 mar 2020.

IGARASHI, R.Y., SEEFELDT, L.C. Nitrogen Fixation: The mechanism of the Mo-dependent nitrogenase. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**. v.38, p.351-384, 2003. <https://doi.org/10.1080/10409230391036766>

ISLAM, M. R., SULTANA, T., CHO, J. C., JOE, M. M., SA, T. M. Diversity of free-living nitrogen-fixing bacteria associated with Korean paddy fields. **Annals of microbiology**, v. 62, p.1643-1650, 2012. DOI 10.1007/s13213-012-0421-z

JAYAKUMAR, N., PAULRAJ, P., SAJEESH, P., SAJNA, K., ZINNEERA, A. Application of native phosphate solubilizing bacteria for the use of cheap organic and inorganic phosphate source in agricultural practise of *Capsicum annum* (Chili)-A pilot scale field study. **Materials Today: Proceedings**, v. 16, p. 1630-1639, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.06.028>

JHA, S. Kr., AHMAD, Z., CROWLEY, D. E. Fuzzy-genetic approaches for estimation of microbial rock phosphate solubilization in sandy clay loam textured soil. **Computers and Eelectronics in Agriculture**, v. 150, p. 125-133, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.04.014>

JOHNSTON-MONJE D., RAIZADA, M.N. Plant and endophytre relationships: nutrient management. **Comprehensive e Biotechnology**. v. 4, p. 713-727, 2011. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00264-6>

KALAYU, G. Phosphate Solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, v.2019, p.1-7, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>

KUKLINSKY-SOBRAL, J., ARAÚJO, W. L., MENDES, R., GERALDI, I. O., PIZZIRANI-KLEINER, A. A., AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, v. 6, p. 1244-1251, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00658.x>

KUMAR, V., MENON, S., AGARWAL, H., GOPALAKRISHNAN, D. Characterization and optimization of bacterium isolated from soil samples for the production of siderophores. **Resource-Efficient Technologies**, v. 3, n. 4, p. 434-439, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.04.004>

LEWIS Jr., W. M., WURTSBAUGH, Wayne A., PAERL, Hans W. Rationale for control of anthropogenic nitrogen and phosphorus to reduce eutrophication of inland waters. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 24, p. 10300-10305, 2011. <https://doi.org/10.1021/es202401p>

LIMA, D. R. M. D., SANTOS, I. B. D., OLIVEIRA, J. T. C., BARBOSA, J. G., DINIZ, W. P. D. S., FARIAS, A. R. B. D., SOBRAL, J. K. Tolerance of potentially diazotrophic bacteria to adverse environmental conditions and plant growth-promotion in sugarcane. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64, p.1534-1548, 2018. <https://doi.org/10.1080/03650340.2018.1443212>

LYNCH, J. P. Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. **Plant Physiology**, v. 156, p. 1041-1049, 2011. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175414>

MAHESHWARI, Dinesh K., SARAF, Meenu, AERON, Abhinav (Ed.). **Bacteria in Agrobiolgy**: crop productivity. Springer Science & Business Media, 2013. 507p

MENDES, G. O., DE FREITAS, A. L. M., PEREIRA, O. L., DA SILVA, I. R., VASSILEV, N. B., COSTA, M. D. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, v. 64, p. 239-249, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0656-3>

MIGUEL, P. S. B., DE OLIVEIRA, M. N. V., DELVAUX, J. C., JESUS, G. L., BORGES, A. C., TÓTOLA, M. R., COSTA, M. D. Diversity and distribution of the endophytic bacterial community at different stages of eucalyptus growth. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 109, p. 755-771, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0676-7>

MITCHELL, M.E., HAMILTON, T.L., UEBEL-NIEMEIER, C., HOPFENSBERGERKN, B.U.I. Nitrogen cycling players and processes in green roof ecosystems. **Applied Soil Ecology**. v.132, p.114–125, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.08.007>

MORA, A. L, GARCIA, C. H. **A cultura do eucalipto no Brasil**. São Paulo: SBS, 2000. 112 p.

MOREIRA, F.M.S., SILVA, K., NÓBREGA, R.S.A., CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Science**. v.1, p.74-99, 2010.

MUNDRA, S., ARORA, R., STOB DAN, T. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel temperature-, pH-, and salt-tolerant yeast, *Rhodotorula* sp. PS4, isolated from seabuckthorn rhizosphere, growing in cold desert of Ladakh, India. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, p. 2387-2396, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0708-4>

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

OKUMURA, R. S., MARIANO, D. C., ZACCHEO, P. V.C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.4, p. 226–244, 2011. <https://doi.org/10.5777/paet.v4i2.1337>

OROZCO-MOSQUEDA, C., ROCHA-GRANADOS, C., GLICK, B.R., SANTOYO, G. Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms.

**Microbiological Research. Elsevier**, v.208, p.25–31, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.005>

PANDA, B., RAHMAN, H., PANDA, J. Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of Eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens. **Rhizosphere**, v. 2, p. 62-71, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.08.001>

PEREIRA, J. C. D., STURION, J. A., HIGA, A. R., HIGA, R. C. V., SHIMIZU, J. Y. Características da madeira de algumas espécies de eucalipto plantadas no Brasil. Colombo: **Embrapa Florestas**. 2000, 112p.

REZAKHANI, L., MOTESHAREZADEH, B., TEHRANI, M. M., ETESAMI, H., HOSSEINI, H. M. Phosphate-solubilizing bacteria and silicon synergistically augment phosphorus (P) uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) plant fertilized with soluble or insoluble P source. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.173, p.504-513. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.060>

RODRIGUEZ, H., GONZALEZ, T., SELMAN, G. Expression of a mineral phosphate solubilizing gene from *Erwinia herbicola* in two rhizobacterial strains. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 155-161, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00347-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00347-3)

SANTAROSA, E., PENTEADO JUNIOR, J. F., GOULART, I.C.G.R. Transferência de tecnologia florestal: cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda. **EMBRAPA -Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E). Brasília: Embrapa Florestas**, 2014. 138 p.

SASSER, M. (revised from 1990) Microbial identification by gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters (GC-FAME), **Technical Note # 101**, p.1-6, 2006. [http://www.midi-inc.com/pdf/MIS\\_Technote\\_101.pdf](http://www.midi-inc.com/pdf/MIS_Technote_101.pdf)

SATYAPRAKASH, M., NIKITHA, T., REDDI, E. U. B., SADHANA, B., VANI, S. S. Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, p. 2133-2144, 2017. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.251>

SELVI, K. B., PAUL, J. J. A., VIJAYA, V., SARASWATHI, K. Analyzing the efficacy of phosphate solubilizing microorganisms by enrichment culture techniques. **Biochemistry and Molecular Biology Journal**, v. 3, p. 1-7, 2017. <https://doi.org/10.21767/2471-8084.100027>

SETTE JR, C. R., DEUS JR, J. C., TOMAZELLO FILHO, M., PADUA, F. A., CALIL, F. N., LACLAU, J. P. Alterações na qualidade da madeira de *Eucalyptus grandis* causadas pela adubação mineral. **Cerne**, v. 20, p. 251-258, 2014. <https://doi.org/10.1590/01047760.201420021499>

SHARMA, S. R.Z., SAYYED, M.H., TRIVEDI, T.A. Gobi phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils **SpringerPlus**, v. 2, p. 587-600, 2013. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>

SHEN, J., YUAN, L., ZHANG, J., LI, H., BAI, Z., CHEN, X., ZHANG, F. Phosphorus dynamics: from soil to plant. **Plant Physiology**, v. 156, p. 997-1005, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.111.175232>

SILVA, M.C.S., PAULA, T.A., MOREIRA, B.C., CAROLINO, M., CRUZ, C., BAZZOLLI, D.M.S., SILVA, C.C., KASUYA, M.C.M. Bactérias de fixação de nitrogênio em plantações de *Eucalyptus globulus*. **Plos One**, v.9, p. e111313, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111313>

SILVA, M. D. C. S., MENDES, I. R., PAULA, T. D. A., DIAS, R. S., PAULA, S. O., SILVA, C. C., BAZOLLI, D.M.S., KASUYA, M. C. M. Expression of the *nifH* gene in diazotrophic bacteria in *Eucalyptus urograndis* plantations. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 46, p. 190-199, 2015. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2015-0063>

SINHA, A. K., PARLI, B. V. Siderophore production by bacteria isolated from mangrove sediments: A microcosm study. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 524, p. 151290, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2019.151290>

SON, H. J., PARK, G. T., CHA, M. S., HEO, M. S. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt-and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 204-210, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.021>

SPAGNOLETTI, F. N., TOBAR, N. E., DI PARDO, A. F., CHIOCCHIO, V. M., LAVADO, R. S. Dark septate endophytes present different potential to solubilize calcium, iron and aluminum phosphates. **Applied Soil Ecology**, v. 111, p. 25-32, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.11.010>

THILAKARATHNA, M.S., PAPADOPOULOS, Y.A., RODD, A.V., GRIMMETT, M., FILLMORE, S. A. E., CROUSE, M. Prithiviraj, B. N fixação e transferência de genótipos de trevo vermelho sob sistemas de produção baseados em forragem de capim-leguminosa, **Agroecosys para Ciclagem de Nutrientes**, v.106, p. 233 -247, 2016.

VERMA, S. C., LADHA, J. K., TRIPATHI, A. K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of Biotechnology**, v. 91, p. 127-141, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00333-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00333-9)

VIDEIRA, S. S., SIMÕES-ARAÚJO, J. L., BALDANI, V. L. D. **Metodologia para isolamento e posicionamento taxonômico de bactérias diazotróficas oriundas de plantas não-leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007.74p

VITAL, M.H.F. Impacto ambiental de florestas de eucalipto. **Revista do BNDES**, Rio de Janeiro, v. 14 , p. 235-275, 2007.

VUONG, Q. V., CHALMERS, A. C., JYOTI BHUYAN, D., BOWYER, M. C., SCARLETT, C. J. Botanical, phytochemical, and anticancer properties of the *Eucalyptus* species. **Chemistry & Biodiversity**, v.12, p. 907-924, 2015. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201400327>

WEI, Y., ZHAO, Y., SHI, M., CAO, Z., LU, Q., YANG, T., WEI, Z. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization

during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 190-199, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.092>.

XU, J. C., HUANG, L. M., CHEN, C., WANG, J., LONG, X. X. Effective lead immobilization by phosphate rock solubilization mediated by phosphate rock amendment and phosphate solubilizing bacteria. **Chemosphere**, v. 237, p. 124540, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124540>

ZENG, Q., WU, X., WEN, X. Identification and characterization of the rhizosphere phosphate-solubilizing bacterium *Pseudomonas frederiksbergensis* JW-SD2, and its plant growth-promoting effects on poplar seedlings. **Annals of Microbiology**, v. 66, p. 1343-1354, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1220-8>

## TABELAS

**Tabela 1.** Análise físico-química do solo de áreas plantadas com *Eucalyptus grandis*

ÁRIAS	pH (H <sub>2</sub> O)	P	K	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H + Al	SB	CTC (t)	CTC (T)	V	M.O	N	P-rem	Argila	Silte	Areia
		mg dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	%	dag kg <sup>-1</sup>	dag kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	kg /kg
<b>Euc P</b>	4.62	2.7	20	0.28	0.08	0.95	11.7	0.41	1,36	12,11	3.4	69.9	0.183	12.0	0.581	0.147	0.272
<b>Euc G</b>	4.38	3.3	22	0.26	0.10	1.23	12.0	0,42	1.65	12.42	3.4	74.5	0.176	12.1	0.628	0.102	0.270
<b>Euc Sil</b>	4.10	2.3	22	0.19	0.11	1.80	8.70	0.36	2.16	9.06	4.0	83.3	0.131	21.5	0.421	0.056	0.523

EUC P = Distrito de Santo Antônio do Rio Preto, Mirai, MG, com rebrota de um ano (S 21° 01 638'; W 042° 34 156'); EUC G = Distrito de Santo Antônio do Rio Preto, Mirai, MG, com árvores de oito anos de idade (S 21° 01 698'; W 042° 33 842'); Euc Sil = Setor de Silvicultura da UFV, com plantas com oito anos de idade (S 21° 01 741'; W 042° 34 258'). pH em H<sub>2</sub>O - relação 1: 2,5; Extrator P, K - Mehlich-1; Extrator de Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> - KCl (1mol/L); Al<sup>3+</sup> é chamado de acidez trocável e é quantificado por titulação; H + Al é a acidez potencial extraída por uma solução de acetato de cálcio (0,5 mol / L) a pH 7; SB - Soma das bases trocáveis; CTC (t) = capacidade de troca catiônica no pH real do solo; CTC (T) = capacidade de troca catiônica a pH 7,0; V = Índice de Saturação de Bases; m = Índice de Saturação de Alumínio; M.O - Matéria Orgânica - C.org\* 1.724 - Walkley-Black; P-rem = Fósforo restante; N - N total - Digestão sulfúrica - Destilação Kjeldhal.

**Tabela 2.** Gram, meio de isolamento e espécie de isolados de bactérias diazotróficas obtidos da rizosfera de *Eucalyptus grandis*

Isolados	Gram	Meio de cultura	Espécie
LEM 01	-	LGI	<i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> )
LEM 02	-	LGI	<i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> )
LEM 03	-	JNFB	<i>Bacillus alcalophilus</i>
LEM 04*	-	LGI	Não correspondido
LEM 05*	-	JNFB	Não correspondido
LEM 06	-	LGI	<i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> )
LEM 07*	-	JNFB	Não correspondido
LEM 08	-	LGI	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 09	-	LGI	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 10	-	LGI	<i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> )
LEM 11	+	LGI	<i>Paenibacillus validus</i> ( <i>Bacillus gordonae</i> )
LEM 12	-	JNFB	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 13	+	LGI	<i>Staphylococcus kloosii</i>
LEM 14	-	LGI	<i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> )
LEM 15	+	LGI	<i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )
LEM 16*	-	LGI	Não correspondido
LEM 17	-	JNFB	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 18	-	JNFB	<i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> )
LEM 19	+	JNFB	<i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )
LEM 20	+	JMV	<i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )
LEM 21	+	JMV	<i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )
LEM 22	+	JNFB	<i>Bacillus cereus</i> GCsubgroupB
LEM 23	+	JMV	<i>Bacillus cereus</i> GcsubgroupA
LEM 24	-	JMV	<i>Burkholderia-cenocepacia/ambifaria/anthina/stabilis</i>
LEM 25	-	JMV	<i>Ralstonia-pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> )
LEM 26	-	LGIP	<i>Burkholderia cenocepacia</i> GCsubgroupB
LEM 27	+	JNFB	<i>Bacillus cereus</i> GCsubgroupB
LEM 28	+	JNFB	<i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )
LEM 29	+	JNFB	<i>Bacillus cereus</i> GCsubgroupB
LEM 30*	-	JMV	Não correspondido
LEM 31	-	NFB	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 32	+	NFB	<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>
LEM 33*	-	JMV	Não correspondido
LEM 34	-	LGIP	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 35	-	NFB	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 36	-	JNFB	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 37	-	JMV	<i>Burkholderia gladioli</i> GCsubgroupB ( <i>Pseudomonas gladioli</i> )
LEM 38	+	LGIP	<i>Bacillus cereus</i> GCsubgroupB
LEM 39	-	JMV	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 40	-	JMV	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 41	-	NFB	<i>Burkholderia cenocepacia/ambifaria/anthina/stabili</i>
LEM 42	-	NFB	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 43	+	NFB	<i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )
LEM 44	-	NFB	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 45	-	JMV	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 46	-	JMV	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ( <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> )
LEM 47	+	JMV	<i>Bacillus cereus</i> GCsubgroupB
LEM 48*	-	LGIP	Não correspondido
LEM 49	+	JMV	<i>Virgibacillus pantothenicus</i> ( <i>Bacillus</i> )
LEM 50	-	LGI	<i>Ralstonia pickettii</i> ( <i>Burkholderia</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> )

\*Isolados não identificados pelo sistema FAME que podem representar espécies novas.

**Tabela 3.** Capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização de fosfato tricálcico ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) e fosfato de alumínio [ $\text{Al}(\text{PO}_4)$ ] e produção de sideróforos por isolados bacterianos obtidos da rizosfera de *Eucalyptus grandis*.

Isolados	Testes qualitativos dos mecanismos de promoção de crescimento			
	FBN	Solubilização de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Solubilização de $\text{Al}(\text{PO}_4)$	Sideróforos
LEM 1	+	+	+	+
LEM 2	+	+	+	+
LEM 3	+	+	+	+
LEM 4	+	+	+	+
LEM 5	+	-	-	+
LEM 6	+	+	+	+
LEM 7	+	+	+	+
LEM 8	+	+	+	+
LEM 9	+	+	+	+
LEM 10	+	+	+	+
LEM 11	+	+	+	+
LEM 12	+	+	+	+
LEM 13	+	+	+	+
LEM 14	+	+	+	+
LEM 15	+	+	+	+
LEM 16	+	+	+	+
LEM 17	+	+	+	+
LEM 18	+	+	+	+
LEM 19	+	-	-	+
LEM 20	+	+	+	+
LEM 21	+	+	+	+
LEM 22	+	+	+	+
LEM 23	+	+	+	+
LEM 24	+	+	+	+
LEM 25	+	+	+	+
LEM 26	+	+	+	+
LEM 27	+	-	-	+
LEM 28	+	+	+	+
LEM 29	+	+	+	+
LEM 30	+	+	+	+
LEM 31	+	+	+	+
LEM 32	+	+	+	+
LEM 33	+	+	+	+
LEM 34	+	+	+	+
LEM 35	+	-	-	+
LEM 36	+	+	+	+
LEM 37	+	+	+	+
LEM 38	+	+	+	+
LEM 39	+	+	+	-
LEM 40	+	+	+	+
LEM 41	+	+	+	+
LEM 42	+	-	-	-
LEM 43	+	-	-	+

**Tabela 3.** Continuação.

Isolados	Testes qualitativos dos mecanismos de promoção de crescimento			
	FBN	Solubilização de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Solubilização de $\text{Al}(\text{PO}_4)$	Sideróforos
LEM 44	+	-	-	+
LEM 45	+	-	-	+
LEM 46	+	+	+	+
LEM 47	+	+	+	+
LEM 48	+	-	-	+
LEM 49	+	-	-	+
LEM 50	+	+	+	+

**Tabela 4.** P solúvel, porcentagem de solubilização (P%), pH e acidez titulável em meio NBRIP contendo fosfato tricálcio e inoculado com isolados de bactérias diazotróficas obtidas da rizosfera de *Eucalyptus grandis*, após 5 dias de cultivo a 28 °C e 150 rpm

Isolados	Solubilização de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$			
	P solúvel ( $\text{mg L}^{-1}$ )	P%	pH	Acidez titulável ( $\text{mmol H}^+ \text{L}^{-1}$ )
LEM36	178.48a	17.86 a	4.466 c	17.08 a
LEM 41	127.95b	12.81 b	4.366 c	10.25 b
LEM 16	87.187c	8.725 c	4.766 c	10.25 b
LEM 38	86.641c	8.671 c	4.533 c	10.25 b
LEM 22	77.112c	7.717 c	5.300 b	8.538 b
LEM 33	72.511c	7.256 c	4.833 c	6.830 c
LEM 14	71.564c	7.162 c	5.233 b	5.123 c
LEM 26	68.824c	6.887 c	5.133 b	10.25 b
LEM 1	66.308c	6.636 c	4.266 c	10.25 b
LEM 25	63.225c	6.327 c	5.033 b	8.538 b
LEM 2	61.928c	6.197 c	4.433 c	10.25 b
LEM 15	60.467c	6.051 c	5.166 b	6.830 c
LEM 10	59.883c	5.993 c	5.166 b	10.25 b
LEM 11	59.299c	5.934 c	5.100 b	10.25 b
LEM 24	58.719d	5.876 c	5.233 b	10.25 b
LEM 9	57.401d	5.745 c	5.200 b	10.25 b
LEM 46	56.261d	5.630 c	5.433 b	5.123 c
LEM 6	55.065d	5.511 c	4.933 c	10.25 b
LEM 4	53.897d	5.394 c	4.866 c	10.25 b
LEM 8	49.517d	4.955 d	5.066 b	10.25 b
LEM 12	47.911d	4.794 d	5.366 b	5.123 c
LEM 23	47.385d	4.742 d	5.033 b	5.123 c
LEM 30	46.975d	4.701 d	5.333 b	5.123 c
LEM 13	46.889d	4.692 d	5.400 b	5.123 c
LEM 31	46.292d	4.632 d	5.100 b	5.123 c
LEM 34	45.609d	4.564 d	5.366 b	5.123 c
LEM 37	44.927d	4.496 d	5.266 b	5.123 c
LEM 28	43.288d	4.332 d	5.566 a	10.25 b
LEM 40	42.742d	4.277 d	4.933 c	5.123 c
LEM 39	41.513d	4.154 d	5.133 b	5.123 c
LEM 47	41.103d	4.496 d	5.800 a	5.123 c
LEM 32	40.284d	4.031 d	5.300 b	5.123 c
LEM 3	39.005d	3.903 d	5.300 b	5.125 c
LEM 29	37.143d	3.717 d	5.766 a	5.123 c
LEM 20	33.164d	3.319 d	5.333 b	5.123 c
LEM 17	29.222d	2.924 d	5.833 a	5.123 c
LEM18	28.346d	2.837 d	5.500 a	5.123 c
LEM21	27.178d	2.720 d	5.066 b	5.123 c
LEM7	24.842d	2.486 d	5.666 a	5.123 c

Para cada coluna, médias seguindo da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ )

**Tabela 5.** P solúvel, porcentagem de solubilização (P%), pH e acidez titulável em meio NBRIP contendo fosfato alumínio e inoculado com isolados de bactérias diazotróficas obtidas da rizosfera de *Eucalyptus grandis*, após 5 dias de cultivo a 28 °C e 150 rpm

Isolados	Solubilização de Al(PO <sub>4</sub> )			
	P solúvel (mg L <sup>-1</sup> )	P%	pH	Acidez titulável (mmol H + L <sup>-1</sup> )
LEM 10	29.680 a	2.379 a	5.566 a	15.369 a
LEM 11	29.579 a	2.369 a	5.400 a	15.369 a
LEM 1	27.548 a	2.166 a	4.166 c	10.246 c
LEM 13	26.828 a	2.094 a	2.800 f	13.661 b
LEM 12	24.984 b	1.910 b	2.933 f	15.369 a
LEM 14	24.076 b	1.819 b	2.833 f	13.661 b
LEM 17	21.815 c	1.593 c	3.033 f	13.661 b
LEM 4	20.158 c	1.427 c	5.366 a	10.246 c
LEM 16	20.144c	1.426 c	2.800 f	15.369 a
LEM 9	19.654c	1.377 c	5.433 a	10.246 c
LEM 8	19.654c	1.377 c	5.433 a	10.246 c
LEM 15	19.409 c	1.352 c	3.133 f	10.246 c
LEM 6	19.164 c	1.328 c	5.500 a	10.246 c
LEM 2	18.357c	1.247 c	4.333 c	10.246 c
LEM 7	17.320c	1.144 c	5.500 a	10.246 c
LEM 41	15.217d	0.933 d	3.466 e	5.123 d
LEM 3	14.223d	0.834 d	4.800 b	10.246 c
LEM 18	13.373d	0.749 d	3.333 e	10.246 c
LEM 47	13.028 d	0.714 d	3.000 f	10.246 c
LEM 39	12.783 d	0.690 d	3.566 e	10.246 c
LEM 29	12.509 d	0.662 d	3.666 d	10.246 c
LEM 37	12.207 d	0.632 d	3.533 e	10.246 c
LEM 34	12.120 d	0.623 d	3.000 f	10.246 c
LEM 32	12.005 d	0.612 d	3.400 e	10.246 c
LEM 24	11.313 d	0.543 d	3.466 e	10.246 c
LEM 31	10.233 e	0.435 e	3.666 d	10.246 c
LEM 30	10.147 e	0.426 e	4.600 b	10.246 c
LEM 23	9.959 e	0.407 e	3.533 e	10.246 c
LEM 40	9.930 e	0.405 e	3.833 d	10.246 c
LEM 25	9.758 e	0.387 e	4.133 c	10.246 c
LEM 21	9.556 e	0.367 e	3.500 e	10.246 c
LEM 46	9.527 e	0.364 e	3.433 e	10.246 c
LEM 26	9.470 e	0.358 e	4.000 c	10.246 c
LEM 22	9.124 e	0.324 e	3.466 e	10.246 c
LEM 20	8.850 e	0.297 e	3.866 d	10.246 c
LEM 36	8.130 e	0.224 e	3.100 f	10.246 c
LEM 38	8.101 e	0.221 e	3.666 d	10.246 c
LEM 33	7.972 e	0.209 e	3.400 e	5.123 d
LEM 28	7.683 e	0.180 e	4.300 c	10.246 c

Para cada coluna, médias seguida da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ )

**Tabela 6:** P solúvel, % de P solubilizado, acidez titulável medido no sobrenadante de culturas de *Stenotrophomonas maltophilia* LEM 10 e *Ralstonia pickettii* LEM 36 em meio NBRIP suplementado com diferentes fontes de fósforo, após 5 dias de cultivo a 28 °C e 150 rpm.

	FRPM	FRCAT	FRARA	FRCR	FRIT	FRAB	FRGA	FRAIP	MÉDIA
-----P (mg L <sup>-1</sup> )-----									
LEM 10	36.30cA	53.41bA	64.56abA	0.31dA	15.10dB	75.24aA	79.46aA	7.78dB	41.52
LEM 36	34.50dB	29.41dB	58.10bcA	0.28eA	42.23cdA	36.87dB	86.85aA	68.56bA	44.60
MÉDIA	35.40	41.41	61.33	0.295	27.165	56.055	83.155	38.17	
CV	14.9%								
-----% de solubilização-----									
LEM 10	8.40dA	10.99cdA	15.48abcA	0.27eA	12.80cdB	18.04abA	19.62aA	2.28eB	10.985
LEM 36	7.99cdA	6.05deB	13.93cA	0.24eA	35.82aA	8.84cdB	21.44bA	20.13bA	14.305
MÉDIA	8.195	8.52	14.705	0.255	24.31	13.44	20.53	11.205	
CV	17.92%								
-----Acidez titulável-----									
LEM 10	12.30cA	9.22eA	5.12fA	3.07gA	15.37aA	9.22eA	14.34bA	11.27dA	9.98
LEM 36	5.12bB	2.05dB	1.02eB	1.02eB	4.09cB	4.09cB	5.12bB	8.20aB	3.84
MÉDIA	8.71	5.63	3.07	2.04	9.73	6.65	9.73	9.73	
CV	0%								
-----pH-----									
CONT	6.13bA	6.60abA	6.13bA	4.63cA	6.66abA	6.70abA	6.37abA	6.90aA	6.26
LEM 10	3.33aB	3.23aB	3.13aB	3.16aB	4.44aB	3.33aB	3.77aB	3.33aB	3.46
LEM 36	2.90bB	3.23bB	2.90bB	2.87bB	3.27aC	3.17bB	3.40abB	3.30bB	3.13
MÉDIA	4.12	4.35	4,05	3,65	4.79	4.40	4.51	4.51	
CV	5.8%								

Fosfatos de Rocha Naturais FRPM (Patos de minas), FRCAT (Catalao), FRARA (Araxá), FRCR (Crandalita), FRIT (Itafós), FRAB (Abaeté), FRGA (Gafsa) e FRAIP (Aipe). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### **CAPÍTULO 3**

## **PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Eucalyptus grandis* POR BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS RIZOSFÉRICAS**

## PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Eucalyptus grandis* POR BACTÉRIAS RIZOSFÉRICAS

### RESUMO

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) são definidas como aquelas que se encontram em interação com plantas no ambiente rizosférico promovendo o desenvolvimento e a produção de biomassa vegetal. As RPCP apresentam potencial de uso em sistemas agrícolas e florestais, reduzindo os custos com fertilizantes e permitindo a manutenção da produtividade em face de estresses bióticos e abióticos. O objetivo deste trabalho foi o de selecionar bactérias rizosféricas promotoras do crescimento de *Eucalyptus grandis* em condições de casa de vegetação. Plântulas de *E. grandis*, obtidas por meio da germinação de sementes, foram inoculadas com 51 isolados bacterianos rizosféricos isolados previamente conforme descrito no capítulo 2. Um controle sem inoculação foi também incluído. As plantas foram cultivadas em Latossolo Vermelho-Amarelo, em casa-vegetação por 120 dias. Ao final do cultivo, foram avaliadas as seguintes variáveis: altura, número de folhas, matéria seca das raízes (MSR), matéria seca foliar (MSF), matéria seca do caule (MSC), matéria seca total (MST), bem com o conteúdo de N, P, K, Ca e Mg e a eficiência de uso de nutrientes (EUN). O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. A inoculação com alguns isolados bacterianos promoveram ganhos máximos de MSR e MST de 1.137 e 695%, respectivamente, em relação ao tratamento controle. A inoculação com os isolados de RPCP aumentou o conteúdo e a EUN de todos os macronutrientes avaliados. No caso do P e do N, na MST, os conteúdos desses nutrientes apresentaram aumentos máximos decorrentes da inoculação bacteriana de 644 e 505 %, respectivamente. Já para o cálcio, os ganhos máximos no conteúdo desse nutriente corresponderam a 572,8% na MST. As análises de agrupamento e de componentes principais revelaram três grupos de RPCP, sendo que o isolado de melhor desempenho foi o *Bacillus cereus* GC subgroup B LEM 29. A inoculação com as RPCP aumentou a EUN, indicando o potencial de utilização desses isolados em solos de baixa fertilidade ou em situações de limitação no uso de fertilizantes. O conjunto de RPCP selecionadas neste experimento representam alternativa biotecnológica importante para a manutenção ou obtenção de ganhos de produtividade com economia de insumos nos sistemas de produção de mudas de eucalipto em viveiro e no campo.

**Palavras-chave:** Macronutrientes, rizosfera, nutrição vegetal, bactérias diazotróficas

## GROWTH PROMOTION OF *Eucalyptus grandis* BY RHIZOSPHERE BACTERIA

### ABSTRACT

Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) are defined as those bacteria that interact with plants in the rhizosphere environment, promoting the development and production of plant biomass. PGPR have a potential for use in agricultural and forestry systems, reducing fertilizer costs and allowing the maintenance of productivity in the face of biotic and abiotic stresses. The objective of this work was to select rhizospheric bacteria that promote the growth of *Eucalyptus grandis* under greenhouse conditions. Seedlings of *E. grandis*, obtained by seed germination, were inoculated with 51 rhizospheric bacterial isolates previously isolated as described in chapter 2. A control without inoculation was also included. The plants were cultivated in a Red-Yellow Latosol, in a greenhouse for 120 days. At the end of cultivation, the following variables were evaluated: plant height, number of leaves, root dry matter (RDM), leaf dry matter (LDM), stem dry matter (SDM), total dry matter (TDM), as well as the N, P, K, Ca and Mg contents and nutrient use efficiencies (EUN). The experiment was carried out in a completely randomized design with four replications. The isolates identified as PGPR in this experiment promoted increases in one or more of the evaluated variables. Inoculation with some bacterial isolates promoted maximum gains in RDM and TDM of 1,137 and 695%, respectively, when compared to the uninoculated control treatment. Inoculation with PGPR isolates increased the content and EUN of all macronutrients evaluated. In the case of P and N in TDM, the contents of these nutrients showed maximum increases due to bacterial inoculation of 644 and 505%, respectively. As for calcium, the maximum gains corresponded to a 572.8% increase in its content in TDM. Clustering and principal component analyses revealed three groups of PGPR, with the isolate with the best performance being *Bacillus cereus* GC subgroup B LEM 29. Inoculation with the selected PGPR led to increases in EUN, indicating the potential use of these isolates in soils of low fertility or in situations of limited use of fertilizers. The set of PGPR selected in this experiment represent a potentially important biotechnological alternative for maintaining or obtaining productivity gains with reduced costs in eucalyptus production systems, either in nurseries or in the field.

**Key words:** Macronutrients, rhizosphere, plant nutrition, diazotrophic bacteria

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o eucalipto é comumente plantado em regiões que apresentam algum tipo de limitação, a exemplo do estresse hídrico e da baixa fertilidade do solo, prejudicando o desenvolvimento e a produtividade dos plantios (MORAES GONCALVES *et al.*, 2013; ASSIS *et al.*, 2015). Do ponto de vista nutricional, a fertilização da cultura envolve a aplicação de nitrogênio e o fósforo para o adequado desenvolvimento das árvores especialmente em condições de baixa fertilidade natural dos solos (MELO *et al.*, 2016). No entanto, as operações de fertilização com adubos químicos implicam em elevação dos custos de produção. Nesse cenário, o uso de microrganismos promotores do crescimento de plantas vem emergindo como biotecnologia alternativa para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas e florestais (YANG *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2020; XIA *et al.*, 2020).

Dentre os microrganismos promotores do crescimento vegetal, encontram-se as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, conhecidas pela sigla RPCP. As RPCP têm sido muito estudadas nas últimas décadas, mas ainda há pouco conhecimento sobre os mecanismos de promoção de crescimento que operam *in planta* (MARASCO *et al.*, 2012; RASHID *et al.*, 2012). Apesar disso, esse grupo de microrganismo constitui importante recurso genético para uso na agricultura e no setor florestal, com vistas a promover o crescimento das espécies cultivadas com o mínimo de gastos e distúrbios ambientais (MARASCO *et al.*, 2012; RASHID *et al.*, 2012). A produção de fitormônios, a solubilização de fosfato inorgânico, a fixação biológica de nitrogênio, a produção de sideróforos, o antagonismo a patógenos e pragas e a proteção da planta em face de estresse ambientais bióticos e abióticos são alguns dos mecanismos potencialmente desempenhados pelos microrganismos promotores do crescimento em geral, e pelas RPCP, em particular (JI *et al.*, 2013; RASHID *et al.*, 2012; NARULA *et al.*, 2013; ABBAMONDI *et al.*, 2016; KHAN *et al.*, 2016).

A rizosfera é entendida como o volume do solo que é influenciado pela atividade das raízes de plantas em suas propriedades físicas, químicas e biológicas (DESSAUX *et al.*, 2016). Os microrganismos associados à rizosfera podem promover o crescimento do hospedeiro por meio de mecanismos específicos, a exemplo da fixação biológica de nitrogênio, da solubilização de fosfato, produção de sideróforos, antagonismo a patógenos, dentre outros (GOPALAKRISHNAN *et al.*, 2018; NUMAN *et al.*, 2018). Os microrganismos promotores de crescimento de plantas são definidos como aqueles microrganismos que se encontram em interação com plantas em suas diversas estruturas e, como resultado desta interação

bidirecional, promovem ganhos no desenvolvimento e na produção de biomassa vegetal (GLICK, 2012; OROZCO-MOSQUEDA *et al.*, 2018).

A rizosfera constitui reservatório importante de microrganismos com potencial de promoção de crescimento vegetal. Recentemente, foram obtidos um conjunto de isolados bacterianos da rizosfera de eucalipto, representado considerável diversidade de gêneros e espécies. O isolamento foi conduzido no sentido de se obter isolados que expressassem um ou mais de um mecanismo de promoção de crescimento *in vitro*, a exemplo da capacidade de fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato e a produção de sideróforos (Mais detalhes em Capítulo 2). Assim, o objetivo do presente trabalho foi o de selecionar, dentre o conjunto de isolados bacterianos previamente obtidos da rizosfera de eucalipto, aqueles com a capacidade de promover o crescimento de plântulas de *E. grandis* em condições de casa de vegetação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Localização do experimento, solo, material vegetal e isolados bacterianos

O experimento foi instalado em casa de vegetação do Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Município de Viçosa, Minas Gerais (20° 45' 14" S; 42° 52' 55" W; altitude de 648 m). O solo utilizado correspondeu ao horizonte B de um Latossolo Vermelho-Amarelo coletado em área pertencente a UFV (20° 46' 00.9" S; 42° 52' 43.4" W). Subamostras do solo coletado foram encaminhadas para a determinação das características físico-químicas conforme Embrapa (2009) [Tabela 1].

As plantas de *E. grandis* foram obtidas pela germinação de sementes diretamente no solo. Antes do semeio, o solo foi previamente fertilizado seguindo as recomendações de adubação para eucalipto em ensaios com vasos de NOVAIS *et al.* (1991).

Os isolados bacterianos utilizados foram obtidos da rizosfera de eucalipto (vide capítulo 2) e incorporados à coleção de bactérias fixadoras de nitrogênio do Laboratório de Ecologia Microbiana, Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agricultura (BIOAGRO), UFV.

O experimento foi conduzido em vasos plásticos com capacidade de 3,5 L contendo 3 dm<sup>3</sup> de solo.

### 2.2. Instalação e condução do experimento

Sementes de *E. grandis* foram superficialmente desinfestadas por meio da submersão sequencial em etanol a 70 % e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 20 % por 1 e 7 minutos, respectivamente, seguida por 5 lavagens com H<sub>2</sub>O destilada e autoclavada (Machado Júnior e Fernandes, 2018). Após o

processo de desinfestação, as sementes foram transferidas para placas de Petri esterilizadas e separadas de 10 em 10 em microtubos de 2 ml. A cada microtubo foram acrescidos 200 µL das culturas dos isolados bacterianos com D.O ajustada para 0.6 e incubados a temperatura ambiente por 1 h. Para a ativação e preparo do incóculo, 100 µL do estoque de cada cultura bacteriana, mantido em glicerol a 15%, em ultrafreezer a -80 °C, foram inoculados em 30 mL de caldo batata-dextrose e incubados por 24 h a 28 °C e 150 rpm. Após a reativação, a DO do meio de cultura foi padronizada para 0,6 e a cultura utilizada para a inoculação das sementes. O tratamento controle, sem inoculação, consistiu na incubação das sementes desinfestadas com meio fresco esterilizado pelo mesmo tempo de 1h.

Cada vaso recebeu o total de 10 sementes inoculadas, semeadas a 0,5 cm de profundidade. Após emergência das plântulas, realizou-se o desbaste, permanecendo uma planta por vaso. Imediatamente após esta operação, uma nova inoculação de reforço foi realizada, aplicando-se 200 µL da cultura padronizada na interface do coleto de cada plântula com o solo. Nas plantas do tratamento controle, sem inoculação microbiana, aplicou-se o mesmo volume de meio de cultura esterilizado.

Os vasos foram irrigados periodicamente com água destilada a fim de se manter 60 % da capacidade de campo. A cada três dias, 100 mL de solução de Clark (Clark, 1975) foram aplicadas por vaso. As plantas foram mantidas por 120 dias em casa de vegetação. Após o período de cultivo, determinou-se a altura das plantas medindo-se a distância do ápice caulinar ao coleto. O número de folhas por planta foi determinado, seguido da coleta da parte aérea e das raízes. A parte aérea foi dividida em folhas e caule, enquanto as raízes foram lavadas com água de torneira para eliminação do solo aderido. O material vegetal colhido foi acondicionado em sacos de papel e seco em estufa de circulação forçada a 70 °C até peso constante.

### **2.3. Análise de macronutrientes**

A concentração de macronutrientes nos tecidos foi realizada após digestão nítrico-perclórica segundo Sarruge & Haag (1974). Os teores de P, K, Mg e Ca foram determinados por Plasma ICP-OES-Optima 8300, e o de nitrogênio, pelo método de Kjeldhal (Sarruge & Haag, 1974).

### **2.4. Eficiência de utilização de nutrientes (EUN)**

A eficiência de utilização de macronutrientes foi calculada usando a seguinte equação:  $EUN = (\text{matéria seca})^2 / (\text{conteúdo de nutrientes na planta})$  (Siddiqi e Glass, 1981).

## 2.5. Análise estatística

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos consistiram na inoculação de 49 isolados de bactéria rizosféricas e um controle, sem inoculação, totalizando 150 unidades experimentais. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias agrupadas pelo teste de *Scott-Knott* a 5 % de probabilidade.

A adequacidade dos dados para análise multivariada foi observada pelo teste de Shapiro-Wilk para normalidade, pelo teste de esfericidade de Bartlett (TEB) e pelo critério Kaiser-Meyer-Olkin (KMO). O TEB permite testar se a matriz de correlações entre as variáveis é similar à matriz identidade, ou seja, avalia a correlação conjuntamente. Já o KMO permite observar a variabilidade conjunta explicada de uma determinada combinação de variáveis e consequentemente se esta é adequada para uma análise multivariada, geralmente é adotado o valor mínimo de 0,5 para atestar uma boa combinação (FIELD, 2005; JAIN, 2010)

A construção de grupos de isolados internamente homogêneos e heterogêneos entre si foi possível através do método de agrupamento de K-means que considera centroides, atribuindo os pontos amostrais ao centroide mais próximo foi adotado. O número de grupos foi escolhido pelo critério de Elbow (KODINARIYA; MAKWANA, 2013; SYAKUR; KHOTIMAH; ROCHMAN; DWI SATOTO, 2018). Para descrever adequadamente as diferenças entre os grupos de isolados, a análise de componentes principais (ACP) foi a técnica adotada, reduzindo a dimensão dos dados para uma melhor compreensão.

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Promoção do crescimento de plantas de *E. grandis*

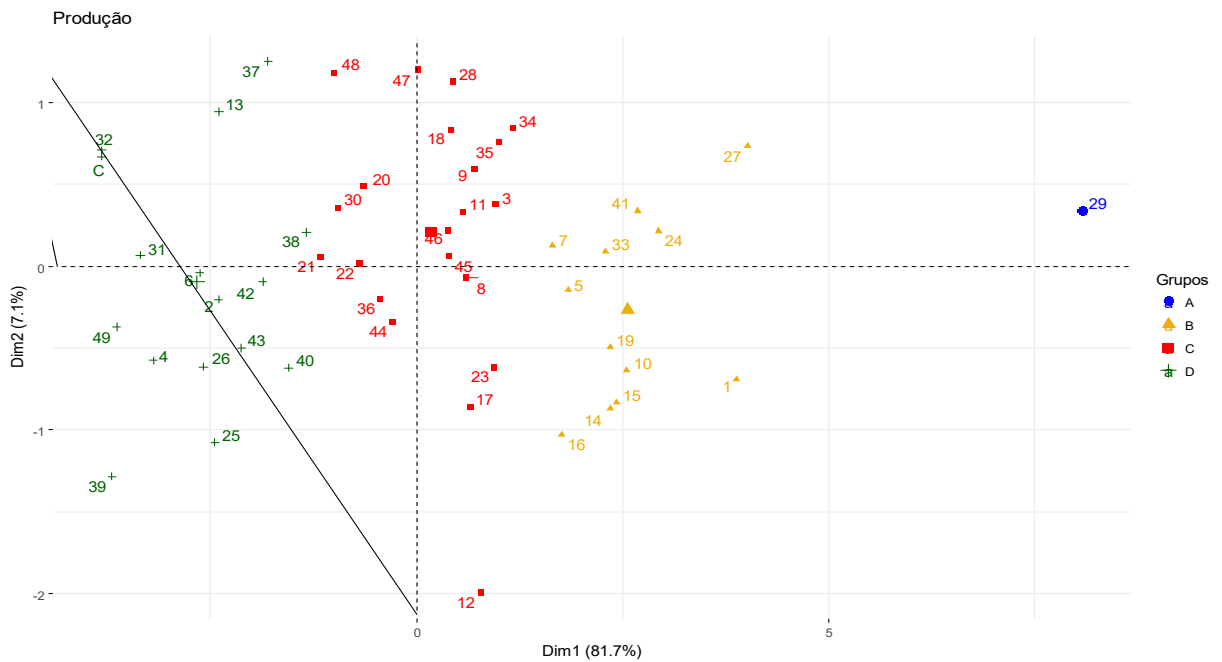
A maioria dos 49 isolados RPCP aumentou o crescimento das plantas de *E. grandis* após os 120 dias de cultivo (Tabela 2). A inoculação com as bactérias rizosféricas aumentou de até 54 % para a altura e 118 % para o número de folhas (Tabela 2). Para a MSF, MSC, MSPA, MSR e MST, os ganhos com a inoculação bacteriana foram variáveis, atingido valores de até 512, 710, 562, 1.137 e 695 %, respectivamente, quando comparados ao tratamento sem inoculação (Tabela 2). Os dados sugerem que, cada isolado bacteriano possui diferenças qualitativas na capacidade de promoção de crescimento de plântulas de *E. grandis*.

A análise de componentes principais (ACP), levando em conta o conjunto de variáveis de produção estudadas, agrupou os 49 isolados de bactérias rizosférica e o tratamento controle em 4 grupos distintos, A, B, C e D (Figura1). O isolado LEM 29 de *Bacillus cereus* GC

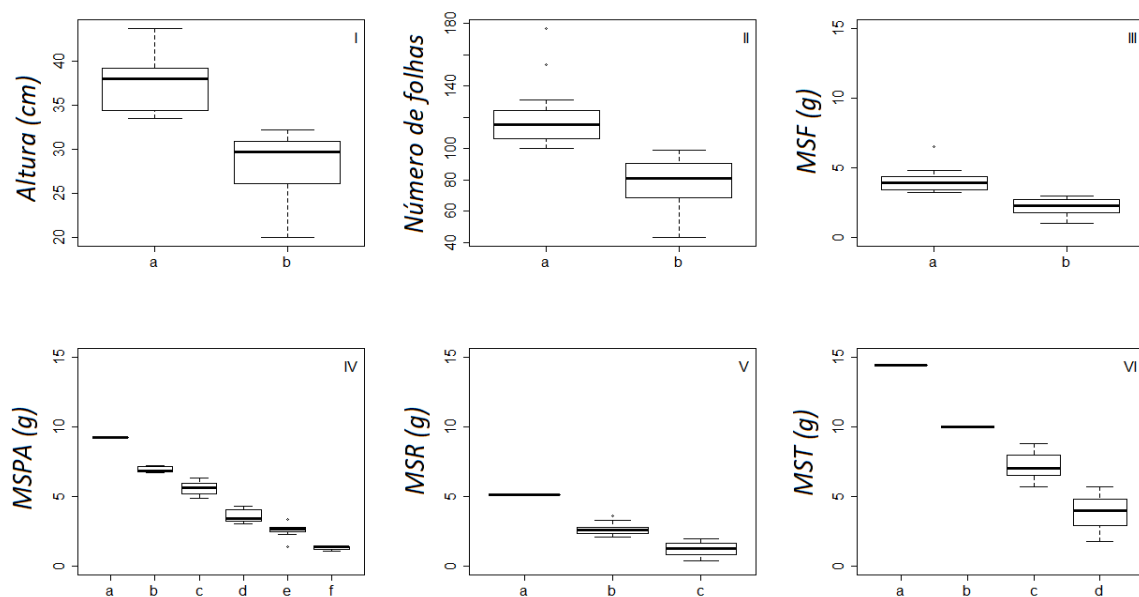
subgroup B destacou-se dos demais formando grupo isolado, grupo A, (Figura 1), enquanto 16 isolados agruparam-se com o tratamento controle, no grupo D (Figura 1). O primeiro componente explicou 81,7% da variabilidade total dos dados, apresentando associações positivas para todas as variáveis avaliadas (Figura 1). O segundo componente explicou 7,1% da variabilidade total, estabelecendo relação positiva para altura e número de folhas e negativa para as demais variáveis (Figura 1).

Levando-se em conta somente o agrupamento obtido pela ACP (Figura 1), foi possível selecionar 34 isolados bacterianos promotores do crescimento de *E. grandis*: *B. cereus* GC subgroup B LEM 29, *Ralstonia pickettii* LEM 1, LEM 5, LEM 7, *R. pickettii* LEM 10, *R. pickettii* LEM 14, *Virgibacillus pantothenicus* LEM 15, LEM 16, *Virgibacillus pantothenicus* LEM 19, *Burkholderia cenocepacia* LEM 24, *B. cereus* GC subgroup B LEM 27, LEM 33, *B. cenocepacia* LEM 41, *Bacillus alcalophilus* LEM 3 *Stenotrophomonas maltophilia* LEM 8, *S. maltophilia* LEM 9, *Paenibacillus validus* LEM 11, *S. maltophilia* LEM 12, *S. maltophilia* LEM 17, *R. pickettii* LEM 18, *Virgibacillus pantothenicus* LEM 20, *V. pantothenicus* LEM 21, *B. cereus* GC subgroup B LEM 22, *B. cereus* GC subgroup A LEM 23, *V. pantothenicus* LEM 28, LEM 30, *S. maltophilia* LEM 34, *S. maltophilia* LEM 35, *S. maltophilia* LEM 36, *S. maltophilia* LEM 44, *S. maltophilia* LEM 45, *S. maltophilia* LEM 46, *B. cereus* GC subgroup B LEM 47, *V. pantothenicus* LEM 48. No presente trabalho, não foram detectadas isolados bacterianos rizosféricos com a capacidade de inibir o crescimento da planta hospedeira.

Os dados de produção, para cada variável, foram tratados em conjunto, de acordo com resultados do teste de agrupamento das médias dos tratamentos de inoculação (Teste Skott-Knott a 5%) [Figura 2]. As médias dos tratamentos foram separadas em 2 (altura das plantas) a 6 grupos (MSPA), sendo que o controle localizou-se sempre no grupo com a menor mediana [Figura 2]. Os grupos de isolados obtidos apresentaram valores de média e mediana distintos, indicando potenciais diferentes de promoção do crescimento da planta hospedeira (Tabela 2, Figuras 1, 2 e 3).



**Figura 1:** Análise de componente principal (APC) das variáveis de produção de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas por 120 dias em casa de vegetação. *Alt* = Altura, *fol* = N° de folhas, *MSF* = Massa seca da folha, *MSC* = Massa seca do caule, *MSPA* = Massa seca da parte aérea, *MSR* = Massa seca da raiz, *MST* = Massa seca total.  $Dim1 = 0,347*(alt) + 0,317*(fol) + 0,401*(MSF) + 0,405*(MSC) + 0,371*(MSPA) + 0,382*(MSR) + 0,413*(MST)$ .  $Dim2 = 0,118*(alt) + 0,882*(fol) - 0,126*(MSF) - 0,093*(MSC) - 0,401*(MSPA) - 0,079*(MSR) - 0,130*(MST)$ .



**Figura 2:** Altura, número de folhas, matéria seca de folhas (MSF), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total de plantas de *E. grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas em casa de vegetação por 120 dias. Letras minúsculas no eixo das ordenadas indicam grupos de médias dos tratamentos de inoculação obtidos pelo teste Skott-knott a 5 % de probabilidade. O tratamento controle, sem inoculação, localiza-se no grupo de menor mediana.



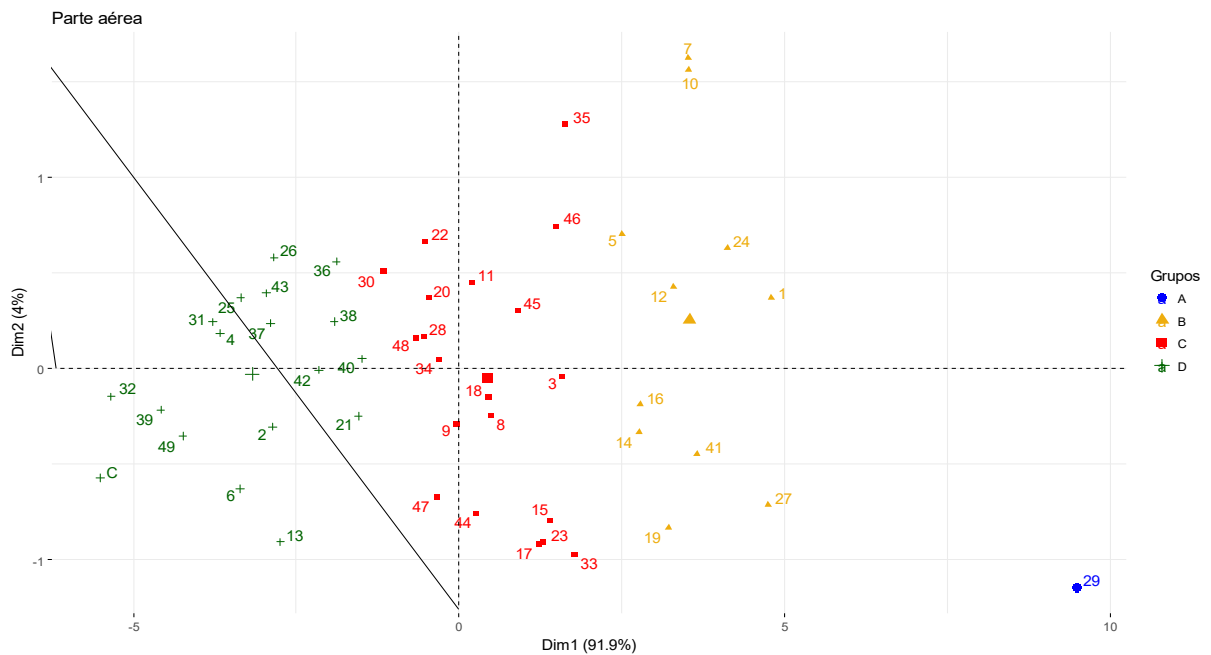
**Figura 3.** Plantas de *Eucalyptus grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos, após 120 dias de crescimento em casa de vegetação. Isolados bacteriano: *Ralstonia pickettii* LEM01e LEM10; *Bacillus cereus* GC subgrupo B LEM 27 e LEM29; *Burkholderia cenocepacia* LEM41; CONT = tratamento controle, sem inoculação.

### 3.2 Absorção e eficiência de utilização de macronutrientes

A inoculação das plântulas de *E. grandis* com os isolados RPCP testados, de forma geral, aumentou o conteúdo e na EUN de um ou mais de um dos macronutrientes avaliados (N, P, K, Ca e Mg) nos diferentes compartimentos da planta (MSPA, MSR e MST) [Tabelas 3 a 8]. Para análise dos nutrientes nos tecidos vegetais, em razão da quantidade insuficiente de material para os procedimentos analíticos, o compartimento MSF e MSC foram combinados para constituir a MSPA.

Para a parte aérea das plantas, os tratamentos de inoculação que promoveram conteúdos de nutrientes superiores aos do controle para N, P, K, Ca e Mg levaram a ganhos no conteúdo de até 472, 518, 513, 508 e 486 %, respectivamente (Tabelas 3 e 4). Novamente, o isolado LEM 29 de *Bacillus cereus* GC subgroup B foi o que resultou em maiores ganhos de conteúdo para todos os macronutrientes na parte aérea (Tabelas 3 e 4)

A análise de componentes principais (ACP), realizada com base nos conteúdos de macronutrientes e a EUN na MSPA agrupou os 49 isolados de bactérias rizosférica e o tratamento controle em 4 grupos distintos, A, B, C e D (Figura 4). Novamente, *Bacillus cereus* GC subgroup B LEM 29 destacou-se dos demais, formando grupo isolado, grupo A, (Figura 4), enquanto 17 isolados agruparam-se com o tratamento controle, no grupo D (Figura 4). O primeiro componente explicou 91,9 % da variabilidade total dos dados, apresentando associações positivas para todas as variáveis avaliadas (Figura 4). O segundo componente explicou 4 % da variabilidade total, estabelecendo relações positivas para os conteúdos de macronutrientes e negativas para as EUN (Figura 4).

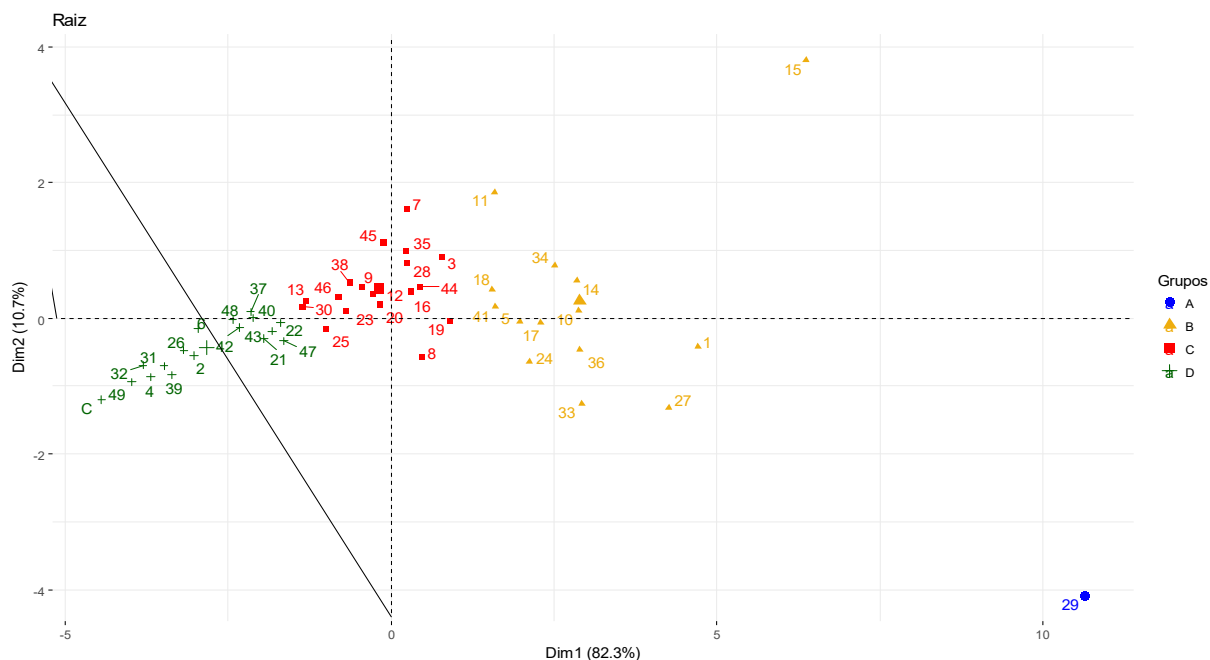


**Figura 4:** Análise de componente principal (APC) para os conteúdos de macronutrientes e eficiência de utilização de nutrientes na matéria seca aradicular de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas por 120 dias em casa de vegetação. N = Nitrogênio, EfN = Eficiência do nitrogênio, P = Fósforo, EfP= Eficiência do fósforo, K= Potássio, EfK= Eficiência do potássio, Ca= Cálcio, EfCa= Eficiência do Cálcio, Mg= Magnésio, EfMg= Eficiência do Magnésio. Dim1 =  $0,315*(N) + 0,319*(EfN) + 0,306*(P) + 0,309*(EfP) + 0,318*(K) + 0,320*(EfK) + 0,315*(Ca) + 0,317*(EfCa) + 0,320*(Mg) + 0,321*(EfMg)$ . Dim2 =  $0,239*(N) - 0,231*(EfN) + 0,530*(P) - 0,494*(EfP) + 0,280*(K) - 0,257*(EfK) + 0,211*(Ca) - 0,255*(EfCa) + 0,230*(Mg) - 0,240*(EfMg)$ .

A inoculação de plântulas de *E. grandis* com os isolados bacterianos avaliados provocou diferentes repostas no acúmulo de N, P, K, Ca e Mg e na EUN na MSR (Tabelas 5 e 6). De forma geral, os efeitos principais da inoculação bacteriana consistiram em aumentos dessas variáveis (Tabelas 5 e 6). Nas raízes, o conteúdo de N, P, K, Ca e Mg sofreram aumentos máximos com a inoculação de alguns isolados de até 764, 974, 624, 970 e 1127 %, respectivamente (Tabelas 5 e 6).

A análise de componentes principais (ACP), realizada com base nos conteúdos de macronutrientes e a EUN na MSR agrupou os 49 isolados de bactérias rizosférica e o tratamento controle em 4 grupos distintos, A, B, C e D (Figura 5). Novamente, *Bacillus cereus* GC subgroup B LEM 29 e *Virgibacillus pantothenicus* LEM 15 destacaram-se, sendo que o primeiro formou grupo isoladamente, grupo A, e o segundo, ficou localizado no grupo B. (Figura 5). O primeiro componente explicou 82,3 % da variabilidade total dos dados, apresentando associações positivas para todas as variáveis avaliadas (Figura 5). O segundo

componente explicou 10 % da variabilidade total, estabelecendo relações positivas para os conteúdos de macronutrientes e negativas para as EUN (Figura 5).

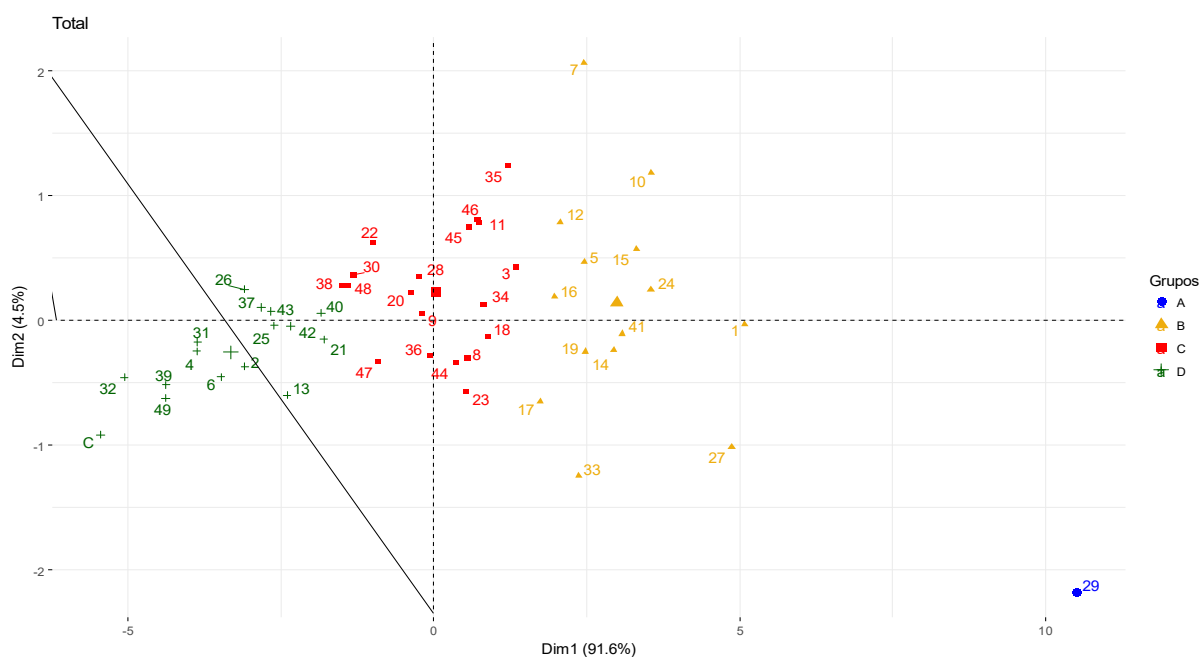


**Figura 5:** Análise de componente principal (APC) para os conteúdos de macronutrientes e eficiência de utilização de nutrientes na matéria seca da parte aérea de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas por 120 dias em casa de vegetação. N = Nitrogênio, EfN = Eficiência do nitrogênio, P = Fósforo, EfP= Eficiência do fósforo, K= Potássio, EfK= Eficiência do potássio, Ca= Cálcio, EfCa= Eficiência do Cálcio, Mg= Magnésio, EfMg= Eficiência do Magnésio. Dim1 =  $0,331*(N) + 0,333*(EfN) + 0,331*(P) + 0,332*(EfP) + 0,282*(K) + 0,309*(EfK) + 0,325*(Ca) + 0,328*(EfCa) + 0,271*(Mg) + 0,314*(EfMg)$ . Dim2 =  $0,220*(N) - 0,253*(EfN) + 0,130*(P) - 0,154*(EfP) + 0,458*(K) - 0,385*(EfK) + 0,126*(Ca) - 0,159*(EfCa) + 0,538*(Mg) - 0,397*(EfMg)$ .

Refletindo as variações na produção de MSR e MSPA, a inoculação das mudas de *E. grandis* com os isolados bacterianos rizosféricos testados levaram a respostas distintas das plantas em relação ao conteúdo de macronutrientes e na EUN da MST (Tabelas 7 e 8). Os conteúdos de N, P, K, Ca e Mg apresentaram aumentos máximos de 505, 644, 490, 572 e 485 %, respectivamente (Tabelas 7 e 8). Para todos os macronutrientes avaliados, o isolado *Bacillus cereus* GC subgroup B LEM 29 foi o que mais se destacou, propiciando ganhos de conteúdo e EUN (Tabelas 7 e 8).

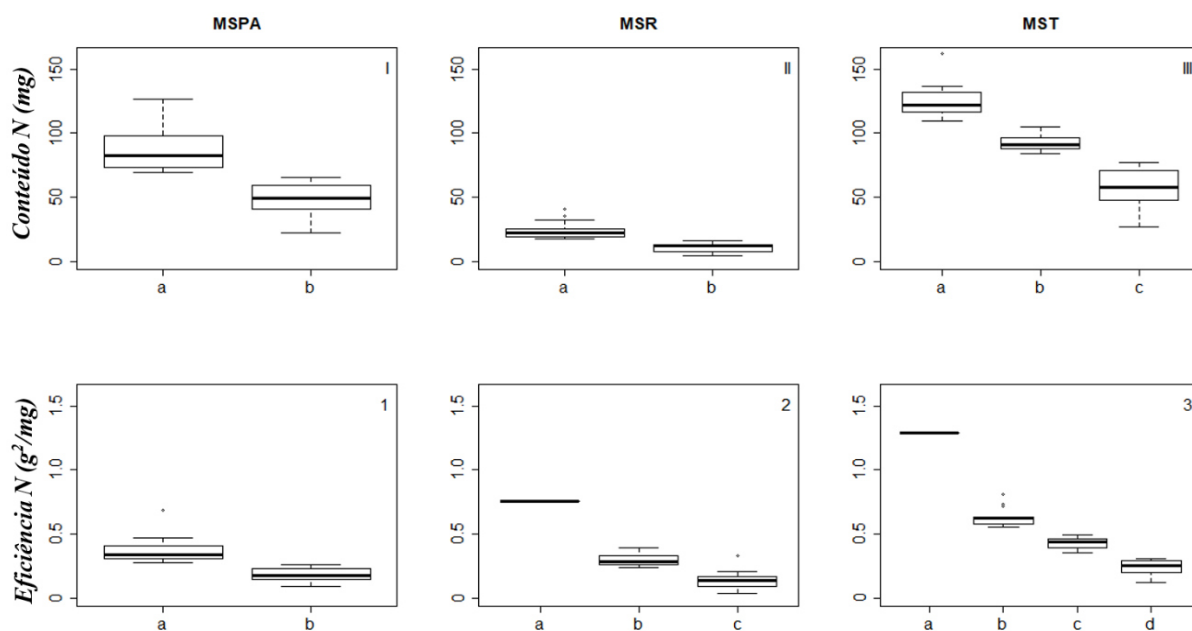
A análise de componentes principais (ACP), realizada com base nos conteúdos de macronutrientes e a EUN na MST, também, agrupou os 49 isolados de bactérias rizosférica e o tratamento controle em 4 grupos distintos, A, B, C e D (Figura 6). Novamente, *Bacillus cereus*

GC subgroup B LEM 29 formou grupo isolado (Figura 6). O primeiro componente explicou 91,6 % da variabilidade total dos dados, apresentando associações positivas para todas as variáveis avaliadas (Figura 6). O segundo componente explicou 4,5 % da variabilidade total, estabelecendo relações positivas para os conteúdos de macronutrientes e negativas para as EUN (Figura 5).

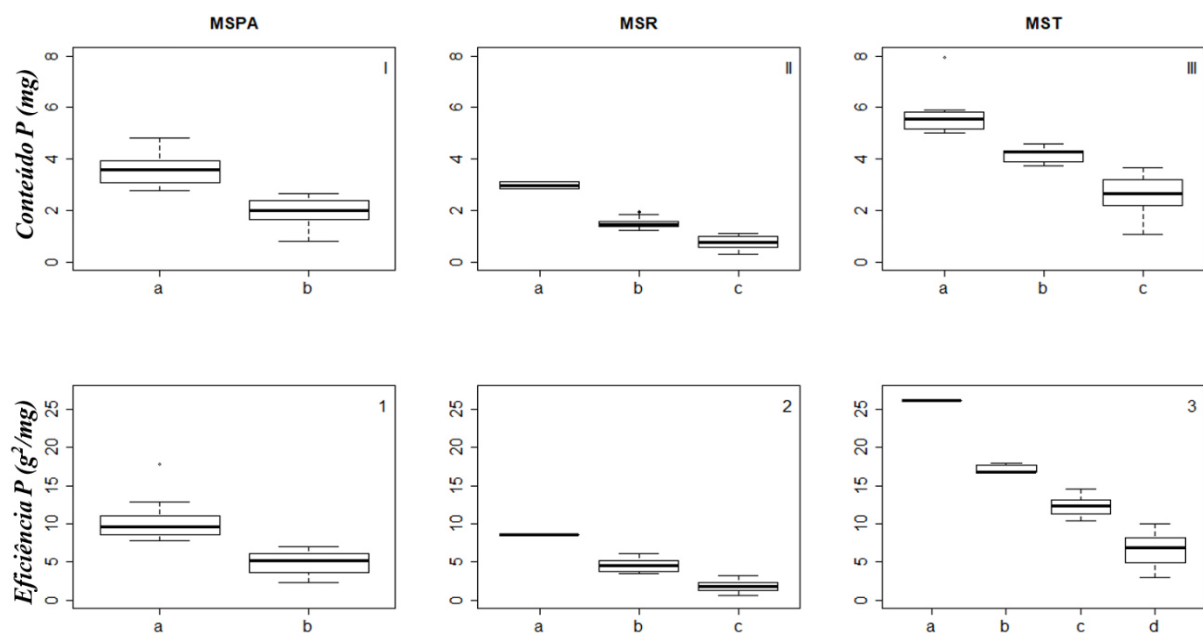


**Figura 6:** Análise de componente principal (APC) para os conteúdos de macronutrientes e eficiência de utilização de nutrientes na matéria seca total de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas por 120 dias em casa de vegetação. N = Nitrogênio, EfN = Eficiência do nitrogênio, P = Fósforo, EfP= Eficiência do fósforo, K= Potássio, EfK= Eficiência do potássio, Ca= Cálcio, EfCa= Eficiência do Cálcio, Mg= Magnésio, EfMg= Eficiência do Magnésio. Dim1 =  $0,317*(N) + 0,320*(EfN) + 0,314*(P) + 0,315*(EfP) + 0,313*(K) + 0,319*(EfK) + 0,317*(Ca) + 0,319*(EfCa) + 0,312*(Mg) + 0,317*(EfMg)$ . Dim2 =  $0,289*(N) - 0,283*(EfN) + 0,320*(P) - 0,327*(EfP) + 0,384*(K) - 0,340*(EfK) + 0,191*(Ca) - 0,242*(EfCa) + 0,380*(Mg) - 0,352*(EfMg)$ .

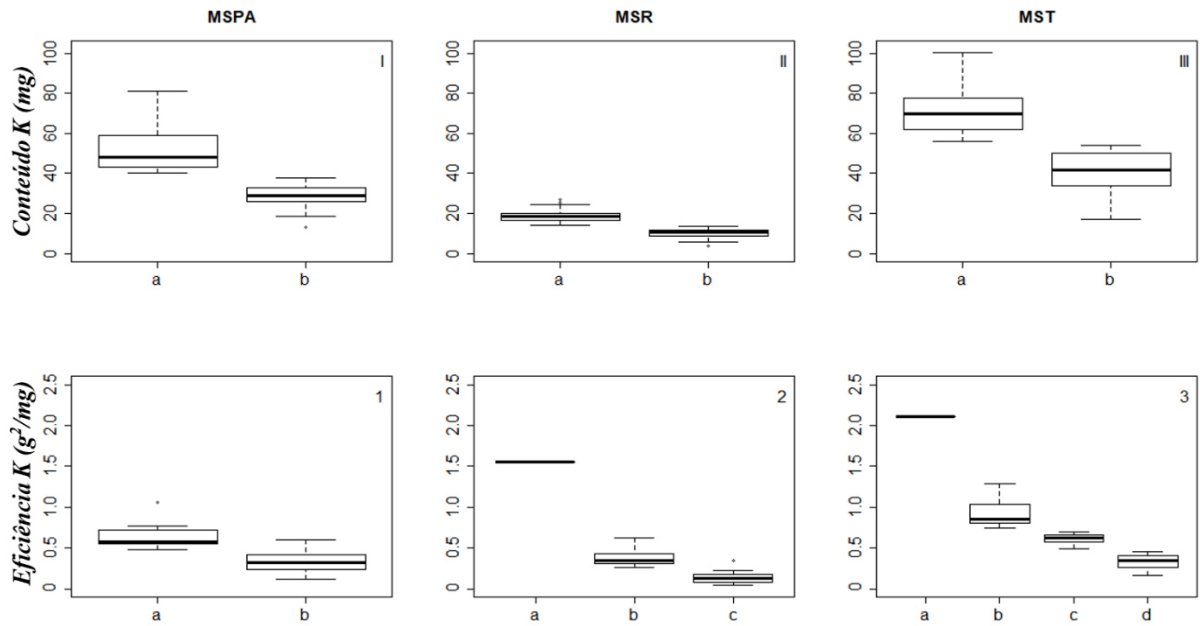
Os dados de conteúdo de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg) e de eficiência de utilização de nutrientes (EUN), foram também tratados em conjunto, de acordo com resultados do teste de agrupamento das médias dos tratamentos de inoculação (Teste Skott-Knott a 5%) [Figuras 7 a 11]. As médias dos tratamentos foram separadas em números variáveis de grupo de acordo com as médias de conteúdo de nutrientes e EUN obtidas, sendo que o controle localizou-se sempre no grupo com a menor mediana [Figuras 7 a 11]. Os grupos de isolados obtidos apresentaram valores de média e mediana distintos para os conteúdos de macronutrientes e EUN (Tabelas 3 a 8, Figuras 7 a 11).



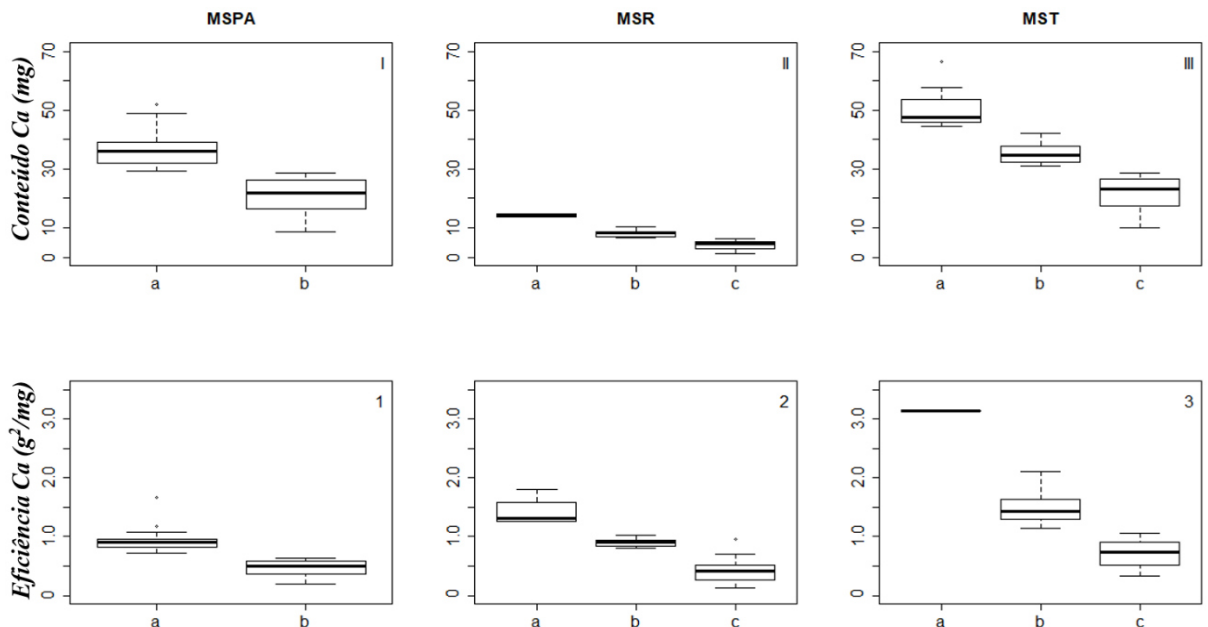
**Figura 7:** Conteúdo e eficiência de utilização de nitrogênio (N) da matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) de plantas de *E. grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas em casa de vegetação por 120 dias. Letras minúsculas no eixo das ordenadas indicam grupos de médias dos tratamentos de inoculação obtidos pelo teste Skott-knott a 5 % de probabilidade. O tratamento controle, sem inoculação, localiza-se no grupo de menor mediana.



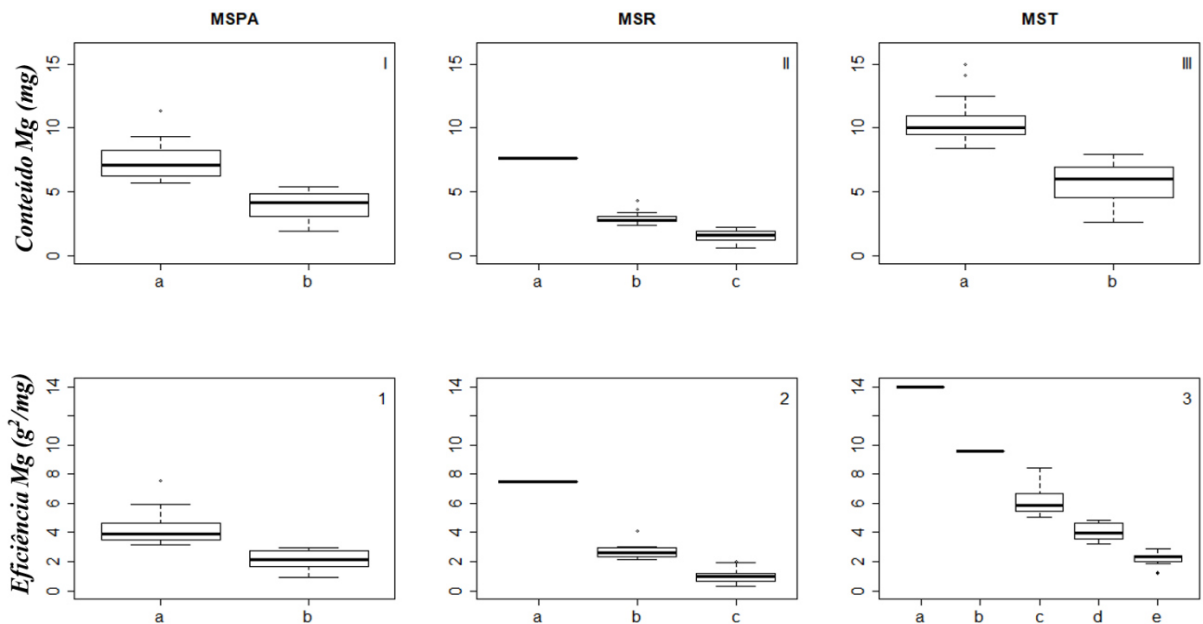
**Figura 8:** Conteúdo e eficiência de utilização de fósforo (P) da matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) de plantas de *E. grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas em casa de vegetação por 120 dias. Letras minúsculas no eixo das ordenadas indicam grupos de médias dos tratamentos de inoculação obtidos pelo teste Skott-knott a 5 % de probabilidade. O tratamento controle, sem inoculação, localiza-se no grupo de menor mediana.



**Figura 9:** Conteúdo e eficiência de utilização de potássio (K) da matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) de plantas de *E. grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas em casa de vegetação por 120 dias. Letras minúsculas no eixo das ordenadas indicam grupos de médias dos tratamentos de inoculação obtidos pelo teste Skott-knott a 5 % de probabilidade. O tratamento controle, sem inoculação, localiza-se no grupo de menor mediana.



**Figura 10:** Conteúdo e eficiência de utilização de cálcio (Ca) da matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) de plantas de *E. grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas em casa de vegetação por 120 dias. Letras minúsculas no eixo das ordenadas indicam grupos de médias dos tratamentos de inoculação obtidos pelo teste Skott-knott a 5 % de probabilidade. O tratamento controle, sem inoculação, localiza-se no grupo de menor mediana.



**Figura 11:** Conteúdo e eficiência de utilização de magnésio (Mg) na matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) de plantas de *E. grandis* inoculadas com isolados bacterianos rizosféricos e cultivadas em casa de vegetação por 120 dias. Letras minúsculas no eixo das ordenadas indicam grupos de médias dos tratamentos de inoculação obtidos pelo teste Skott-knott a 5 % de probabilidade. O tratamento controle, sem inoculação, localiza-se no grupo de menor mediana.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação das variáveis de crescimento da planta de eucalipto

No presente trabalho, foi possível selecionar 34 isolados bacterianos, pertencentes a diferentes espécies, com capacidade de promover o crescimento de plantas de *E. grandis* em casa de vegetação. Os isolados selecionados apresentaram comportamento distinto, com capacidade diferenciado de promover aumentos na produção de matéria seca dos diferentes compartimentos da planta hospedeira. As análises de produção de MSR, MSF, MSC e MSPA e MST permitiram agrupar o total de isolados testados em 4 grupos (A, B, C D), sendo que os três primeiros contêm os promotores de crescimento. O conjunto de isolados bacterianos selecionados apresentam boa gama de diversidade e propriedades distintas que permitem utilizá-los como modelos em estudos futuros sobre as interações entre *E. grandis* a planta hospedeira.

A estimulação do crescimento pode estar relacionada com vários atributos do microrganismo, tais como a fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção de sideróforos que podem estar ligados ao desenvolvimento da planta (Santoyo *et al.*, 2016; Devi *et al.*, 2017). Apesar de alguns dos isolados testados apresentarem essas funções, não foram estabelecidas associações entre a expressão desses mecanismos *in vitro* (Vide Capítulo 2) com a capacidade de promoção de crescimento aqui verificada. Em geral, para se averiguar a expressão de determinado mecanismo bioquímico e avaliar sua contribuição para a promoção de crescimento, torna-se necessário avaliar a expressão do mesmo *in planta*, com o uso de microrganismos que apresentem as suspostas vias interrompidas.

Neste estudo, os aumentos nas variáveis de produção observados após a inoculação de certos isolados podem estar relacionados à expressão dos mecanismos citados acima *in planta*. Em trabalhos anteriores, a inoculação de plantas de eucalipto com bactérias rizosféricas para a obtenção de melhorias no crescimento das plantas levou a aumentos de 50 % na matéria seca da parte aérea, 135 % na massa seca de raízes e 142 % na massa seca total (Angulo *et al.*, 2014). Já em outros relatos, os aumentos máximos obtidos para a matéria seca das raízes foram de 168 e 223 %, com o uso de estacas de *Eucalyptus* spp. (Teixeira *et al.*, 2007; Díaz *et al.*, 2009). Todos esses valores são inferiores aos ganhos de matéria seca obtidos nos diferentes compartimentos da planta em nosso trabalho (MSF, 512%; MSC, 710 % MSPA, 652%, MSR, 1137 %, e MST, 695 %), sugerindo ampla variação na capacidade de promoção do crescimento, bem como a necessidade de se prospectar microrganismos mais eficientes nessa atividade.

#### **4.2 Acúmulo de macronutrientes e a eficiência de utilização de nutrientes**

Os microrganismos promotores do crescimento aqui selecionados foram capazes de aumentar o conteúdo de N, P, Ca e Mg e a EUN de *E. grandis*, com destaque para os isolados *Bacillus cereus* GC subgroup B LEM 29 e *Virgibacillus pantothenicus* LEM 15. O crescimento e a produtividade das plantas dependem, consideravelmente, da disponibilidade de nutrientes na interface solo-sistema radicular, que por sua vez, é influenciada por comunidades de macro- e microrganismos do solo, bem como pelas condições ambientais. A atividade biológica das raízes em conjunto com os microrganismos, podem desempenhar papel importante na absorção dos nutrientes necessários para o desenvolvimento das culturas (Marschner, 2011; Pii *et al.*, 2015).

Os isolados analisados nesta pesquisa são capazes de fixar nitrogênio, solubilizar fosfatos e produzir sideróforos (Vide Capítulo 2). Esses mecanismos de promoção de

crescimento podem estar relacionados aos ganhos no conteúdo dos nutrientes observados para as plântulas de *E. grandis* (Vacheron et al., 2013; Pii et al., 2015; Zahid et al. 2015).

Neste trabalho, foram estudados isolados bacterianos da rizosfera da planta hospedeira, sendo os experimentos conduzidos em solo não esterilizado. A seleção de bactérias assim realizada privilegia microrganismos com alta competência rizosférica, capazes de colonizar esse ambiente, sem sofrerem exclusão competitiva com a microbiota residente. Ressalta-se que nossos dados confirmam a existência de comunidades bacterianas diazotróficas da rizosfera de eucalipto que, a despeito dos mecanismos de promoção de crescimento que expressam, são capazes de produzir ganhos na produção de biomassa da planta hospedeira mesmo na presença de outros microrganismos competentes nesta atividade (Loureiro, 2010). A presença de bactéria diazotrófica é comum na parte aérea de eucalipto e varia de acordo com o estágio de crescimento da planta ou com as diferentes etapas de produção de mudas (Miguel et al., 2016). É possível que as comunidades diazotróficas rizosféricas contribuam para a constituição das comunidades diazotróficas endofíticas. Trabalhos adicionais deverão ser realizados para confirmar essa hipótese.

Embora no nosso trabalho a atividade diazotrófica não tenha sido medida *in planta*, há relato na literatura que indica que a presença de microrganismos diazotróficos podem operar no suprimento de N para o eucalipto (Fonseca et al., 2018). É notório que a inoculação dos isolados de bactérias rizosféricas aqui relatado provocou aumentos no conteúdo de N na MST de até 505%. Esses ganhos podem estar relacionados com a fixação biológica de nitrogênio ou com a maior degradação da matéria orgânica do solo (Valadares et al, 2020). Alternativamente, a presença de MPCP na raiz provoca mudanças na arquitetura radicular, tornando-o mais ramificado e rico em pelos radiculares, podendo levar ao maior acesso a nutrientes (REF).

O conteúdo de P na MST foi aumentado em até 644 %, indicando a capacidade das bactérias promotoras de crescimento selecionadas em aumentar o acesso das plantas de *E. grandis* a esse nutriente. Entre os macronutrientes, o fósforo presente na rizosfera encontra-se em formas pouco disponíveis (imobilizado, precipitado ou adsorvido nas partículas de argila) [Novais et al., 2007; GOUDA et al., 2018; Nascimento et al., 2021]. A solubilização e mineralização do fósforo pode ocorrer com o auxílio microrganismos promotores de crescimento, como as bactérias que possuem mecanismos para tornar o fósforo na forma disponível para as plantas absorverem (GOUDA et al., 2018).

Os microrganismos promotores de crescimento podem produzir ácidos orgânicos capazes de diminuir o pH do meio, e aumentar o potencial de solubilização dos fosfatos

(Satyaprakash et al., 2017; Kalayu, 2019). Além do fosfato, o aumento da disponibilidade de cálcio e magnésio para as plantas, pode estar relacionado, da mesma forma, à liberação de ácidos orgânicos envolvidos nos processos microbianos de solubilização (Devêvre et al 1996).

Nosso estudo revelou efeito mais amplo da inoculação de bactérias promotoras do crescimento sobre o conteúdo dos macronutrientes avaliados. Os efeitos benéficos da inoculação não se restringiram a um elemento somente, mas impactaram o acúmulo de todos eles. Liu *et al.* (2012) observaram que algumas bactérias têm a capacidade de solubilizar as rochas de potássio e liberar elementos como K e Ca. Portanto, os mecanismos de solubilização de potássio surgem como uma alternativa para as plantas absorverem o K e Ca disponível e suprir sua demanda nutricional.

Recentemente, Wu *et al.* (2019) em seus estudos utilizando bactérias solubilizadores de P, observaram que o teor de N, P e K nas plantas e no solo foram aumentados na presença de microrganismos promotores selecionados. De fato, em outros relatos, têm sido observado que a inoculação de fungos promotores de crescimento tem efeitos mais amplos na nutrição mineral das plantas, como melhorias no acúmulo de macro- e micronutrientes (Loureiro, 2010). Esse fato indica mecanismos microbianos de disponibilização de nutrientes que interagem positiva e sinergicamente beneficiando a nutrição mineral da planta como um todo. Esse fato não está limitado a bactérias e fungos rizosféricos promotores do crescimento de planta, mas já foi relatado também para fungos ectomicorrízicos que beneficiam a absorção de macro- e micronutrientes da planta, e não somente a de P (Silva *et al.*, 2007).

A EUN é a medida de capacidade da planta em converter o nutriente presente no substrato em biomassa (Siddiqi e Glass, 1981). Os isolados bacterianos testados mostraram-se eficientes em promover o acúmulo de macronutrientes pelas plantas de *E. grandis*. A melhor nutrição mineral das plantas ocasionada pela inoculação com esses microrganismos implica em maior capacidade fotossintética e maior eficiência de assimilação de carbono pelas plantas, melhorando a eficiência de utilização dos nutrientes minerais. Além disso, sabe-se que a associação da planta com microrganismos promove outros benefícios adicionais nas relações hídricas da planta e na tolerância a estresses ambientais (Trivedi et al. 2020). Em geral, a maioria dos isolados microbianos selecionados aumentaram a EUN das plântulas de eucalipto, sugerindo grande potencial de contribuição para redução dos gastos com fertilizantes nos plantios, bem como para o melhor uso dos reservatórios naturais desses elementos no solo.

Finalmente, o conjunto de bactérias obtido neste trabalho contém, indivíduos com características de promoção do crescimento vegetal variadas que poderão ser usados em estudos

futuros para o melhor entendimento da interação entre eucalipto e microrganismos rizosféricos. Também, a durabilidade dos efeitos benéficos da inoculação nas fases de implantação e crescimento das mudas em campo deverão ser avaliados no futuro visando selecionar os indivíduos mais aptos a comporem inoculantes para uso no setor florestal.

## 5 CONCLUSÃO

Foi possível selecionar o total de 34 isolados bacterianos rizosféricos promotores do crescimento de *E. grandis*. Os isolados aumentam a produção de massa seca das plantas, o conteúdo de macronutrientes e a eficiência de utilização de nutrientes. A maior eficiência de utilização de nutrientes obtida com alguns dos isolados promotores do crescimento vegetal sugere o potencial dessas bactérias rizosféricas em contribuir para economia no uso de fertilizantes. O conjunto de isolados testados apresentam diferentes propriedades na promoção de crescimento de *E. grandis*, podendo servir de modelo para os estudos das interações entre a planta hospedeira e a microbiota rizosférica.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ABBAMONDI, G. R., TOMMONARO, G., WEYENS, N., THIJS, S., SILLEN, W., GKOREZIS, P., VANGRONSVELD, J. Plant growth-promoting effects of rhizospheric and endophytic bacteria associated with different tomato cultivars and new tomato hybrids. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.3, p.1, 2016. <https://doi.org/10.1186/s40538-015-0051-3>
- ANGULO, V. C., SANFUENTES, E. A., RODRÍGUEZ, F., SOSSA, K. E. Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. **Revista Argentina de Microbiología**, v.46, p.338-347, 2014. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70093-8](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70093-8)
- ASSIS, T.F., ABAD, J.I.M., AGUIAR, A. M. Melhoramento genético do eucalipto. In: SCHUMACHER, M.V., VIEIRA, M. (Ed.). **Silvicultura do eucalipto no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2015. p. 217- 244.
- BOLAND, D. J., BROOKER, M. I. H., CHIPPENDALE, G. M., HALL, N., HYLAND, B. P. M., JOHNSTON, R. D., TURNER, J. D. (Eds.). **Forest trees of Australia**. CSIRO publishing, 2007, p.715.

DEMONTIÊZO, F. L. L., ARAGÃO, M. F., JÚNIOR, M. V., PAIVA, P. V. V., LIMA, S. C. R. V. 2016. Emergência e crescimento inicial de tomate ‘Santa Clara’ em função da salinidade e condições de preparo das sementes. **Irriga**, v. 1, p. 81-92, 2016. <https://doi.org/10.15809/irriga.2016v1n1p81-92>

DESSAUX, Y., GRANDCLÉMENT, C., FAURE, D. Engineering the rhizosphere. **Trends in Plant Science**, v.21, p.266–278, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.002>

DEVEVRE, O., GARBAYE, J., BOTTON, B. Release of complexing organic acids by rhizosphere fungi as a factor in Norway spruce yellowing in acidic soils. *Mycological Research*, v. 100, p.1367-1374, 1996. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80065-7](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80065-7)

DEVI, K. A., PANDEY, G., RAWAT, A. K. S., SHARMA, G. D., PANDEY, P. The endophytic symbiont *Pseudomonas aeruginosa* stimulates the antioxidant activity and growth of *Achyranthes aspera* L. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.1-14, 2017. <https://doi.org/10.3389/>

DÍAZ, K., VALIENTE, C., MARTÍNEZ, M., CASTILLO, M., SANFUENTES, E. Root-promoting rhizobacteria in *Eucalyptus globulus* cuttings. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.25, p.867, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-9961-1>

ETESAMI, H., ALIKHANI, H. A. A rizosfera e a endoriza de plantas de colza (*Brassica napus* L.) abrigam bactérias com efeitos benéficos multifacetados. **Biological Control**, v.94 ,p. 11-24, 2016.

FONSECA, E.S., PEIXOTO, R. S., ROSADO, A. S., BALIEIRO, F.C., TIEDJE, J. M., RACHID, C. T. C.C. The microbiome of *Eucalyptus* roots under different management conditions and its potential for biological nitrogen fixation. **Microbial Ecology**, v.75, p. 183-191, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1122-8>.

GLICK, B.R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v.2012, p. 1-15, 2012. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>

GONZALES, P. F., BICUDO, S. J., MORAES-DALLAQUA, M. A., TANAMATI, F. Y., AGUIAR, E. B. 2014. Componentes de produção e morfologia de raízes de mandioca sob diferentes preparos do solo. **Bragantia**, v. 73, p.357-364, 2014. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0150>

GOUDA, S., KERRY, R. G., DAS, G., PARAMITHIOTIS, S., SHIN, H. S., PATRA, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, v. 206, p.131-140, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016>

GOPALAKRISHNAN, S., SRINIVAS, V., VEMULA, A., SAMINENI, S. Influence of diazotrophic bacteria on nodulation, nitrogen fixation , growth promotion and yield traits in five cultivars of chickpea. **Biocatalysis Agricultural Biotechnology**. v.15, p.35-42, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.05.006>

HSING, T. Y., PAULA, N. F. D., PAULA, R. C. D. Características dendrométricas, químicas e densidade básica da madeira de híbridos de *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, v. 26, p.273-283, 2016. <https://doi.org/10.5902/1980509821119>

IBA -Indústria Brasileira de Árvores. **Relatório da Indústria Brasileira de Árvores**. 2017. <https://iba.org/datafiles/publicacoes/pdf/iba-relatorioanual2017.pdf> Acesso em 25/06/2020.

IBA -Indústria Brasileira de Árvores. **Relatório da Indústria Brasileira de Árvores**. 2019. <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>. Acesso em 25/06/2020.

JI, S. H., GURURANI, M. A., CHUN, S. C. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. **Microbiological Research**, v.169, p.83-98, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.06.003>

KALAYU, G. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, v.2019, p.1-7, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>

KUMAR, V., JAIN, L., JAIN, S. K., CHATURVEDI, S., KAUSHAL, P. Bacterial endophytes of rice (*Oryza sativa* L.) and their potential for plant growth promotion and antagonistic activities. **South African Journal of Botany**. s/v, p.1-14, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.03.001>

LATIF KHAN, A., AHMED HALO, B., ELYASSI, A., ALI, S., AL-HOSNI, K., HUSSAIN, J., LEE, I. J. Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.19, p.58-64, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.02.001>

LIU, D., LIAN, B., DONG, H. Isolation of *Paenibacillus* sp. and assessment of its potential for enhancing mineral weathering. **Geomicrobiology Journal**, v. 29, p. 413-421, 2012. <https://doi.org/10.1080/01490451.2011.576602>

MACHADO JUNIOR, R. G., FERNANDES, D. Á. Assepsia e germinação *in vitro* de *Adenium obesum*. **CONNECTION LINE**, s/v, p.102-110, 2018. <http://dx.doi.org/10.18312/connectionline.v0i18.823>

MARSCHNER, P. Marschner's mineral nutrition of higher plants, 3rd ed. London, 2011, 645p.

MARASCO, R., ROLLI, E., ETTOUMI, B., VIGANI, G., MAPELLI, F., BORIN, S., ZOCCHI, G. A drought resistance-promoting microbiome is selected by root system under desert farming. **PloS One**, v.7, p.e48479, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048479>

MELO, E. A. S. C. D., GONÇALVES, J. L. D. M., ROCHA, J. H. T., HAKAMADA, R. E., BAZANI, J. H., WENZEL, A. V. A., FERREIRA, E. V. D. O. Responses of clonal eucalypt plantations to N, P and K fertilizer application in different edaphoclimatic conditions. **Forests**, v.7, p.1-15, 2016. <https://doi.org/10.3390/f7010002>

MENDES, G. O., FREITAS, A. L. M., PEREIRA, O. L., SILVA, I. R., VASSILEV, N., MORAES GONCALVES, J. L., ALVARES, C. A., HIGA, A. R., SILVA, L. D., ALFENAS, A. C., STAHL, J., BOUILLET, J. P. D. Integrating genetic and silvicultural strategies to

minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. **Forest Ecology and Management**, v.301, p.6-27, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.12.030>

MIGUEL, P. S. B., OLIVEIRA, M. N. V., DELVAUX, J. C., DE JESUS, G. L., BORGES, A. C., TÓTOLA, M. R., COSTA, M. D. Diversity and distribution of the endophytic bacterial community at different stages of *Eucalyptus* growth. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.109, p.755-771, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0676-7>

NARULA, S., ANAND, R. C., DUDEJA, S. S. Beneficial traits of endophytic bacteria from field pea nodules and plant growth promotion of field pea. **Journal of Food Legumes**, v.26, p.73-79, 2013.

NOVAIS, R.F., NEVES, J.C.L., BARROS, N.F. Ensaio em ambiente controlado. Métodos de pesquisa em fertilidade do solo, v. 1, p. 89-253, 1991.

NUMAN, M., BASHIR, S., KHAN, Y., MUMTAZ, R. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. **Microbiological Research Elsevier**. v.209, p.21-32, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.02.003>

OROZCO-MOSQUEDA, C., ROCHA-GRANADOS, C., GLICK, B.R., SANTOYO, G. Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. **Microbiological Research Elsevier**, v.208, p.25–31, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.005>

PII, Y., MIMMO, T., TOMASI, N., TERZANO, R., CESCO, S., CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, p. 403-415, 2015. DOI 10.1007/s00374-015-0996-1

PURI, A., PADDA, K. P., CHANWAY, C. P. *In vitro* and *in vivo* analyses of plant-growth-promoting potential of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. **Applied Soil Ecology**, v.149, p.103538, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103538>

RASHID, S., CHARLES, T. C., GLICK, B. R. Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. **Applied soil ecology**, v.61, p.217-224, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.09.011>

SAHA, M., SARKAR, S., SARKAR, B., SHARMA, B. K., BHATTACHARJEE, S., TRIBEDI, P. Microbial siderophores and their potential applications: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 3984-3999, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4294-0>

SATYAPRAKASH, M., NIKITHA, T., REDDI, E. U. B., SADHANA, B., VANI, S. S. Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. Sci, v. 6, p. 2133-2144, 2017. <https://doi.org/10.20546/Ijcmas.2017.604.251>

SALEHI, B., SHARIFI-RAD, J., QUISPE, C., LLAIQUE, H., VILLALOBOS, M., SMERIGLIO, A., CASTILLO, C. M. S. Insights into *Eucalyptus* genus chemical constituents, biological activities and health-promoting effects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 609-624, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.003>

SANTOYO, G., MORENO-HAGELSIEB, G., DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA, M., GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p.92-99, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>

SIDDIQI, M. Y., GLASS, A. D. Utilization index: A modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**. v. 4, p.289–302, 1981. <https://doi.org/10.1080/01904168109362919>

SOUZA, D. V., BLEICH, M. E., MARTINS, N. P., BASSOTTO, J. M., MORTAT, A. F., SANTOS, A. F. A. Concentração de nutrientes em *Eucalyptus urograndis* (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden x *Eucalyptus urophylla* S. T Blake) com sete anos de idade na borda sul da Amazônia. **Biodiversidade**, v. 15, p. 35-44, 2016.

TEDESCO, M.J., GIANELLO, C., BISSANI, C.A., BOHNEN, H. VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**.2º Edição. Porto Alegre: Departamento de solo. UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).

TEIXEIRA, D. A., ALFENAS, A. C., MAFIA, R. G., FERREIRA, E. M., SIQUEIRA, L. D., MAFFIA, L. A., MOUNTEER, A. H. Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 118-123, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000100025>

VACHERON, J., DESBROSSES, G., BOUFFAUD, M. L., TOURAINE, B., MOËNNE-LOCCOZ, Y., MULLER, D., PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p 356-374, 2013. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>

XIA, M., CHAKRABORTY, R., TERRY, N., SINGH, R. P., FU, D. Promotion of saltgrass growth in a saline petroleum hydrocarbons contaminated soil using a plant growth promoting bacterial consortium. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 146, p. 104808, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104808>

ZAHID, M., ABBASI, M. K., HAMEED, S., RAHIM, N. Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 207-216, 2015. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00207>

YANG, H., PURI, A., PADDA, K. P., CHANWAY, C. P. Effects of *Paenibacillus polymyxa* inoculation and different soil nitrogen treatments on lodgepole pine seedling growth. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 46, p. 816-821, 2016. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2015-0456>

WU, F., LI, J., CHEN, Y., ZHANG, L., ZHANG, Y., WANG, S., LIANG, J. Effects of phosphate solubilizing bacteria on the growth, photosynthesis, and nutrient uptake of *Camellia oleifera* Abel. **Forests**, v.10, p. 348- 357, 2019. <https://doi.org/10.3390/f10040>

## TABELAS

**Tabela 1:** Análise físico-química do solo do horizonte B de Latossolo coletado em Viçosa, MG, Brasil

Solo	pH (H <sub>2</sub> O)	P mg dm <sup>-3</sup>	K mg dm <sup>-3</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H + Al	SB	CTC (t)	CTC (T)	V	m	M.O	P-rem	N	Argila	Silte	Areia
		----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----										%	dag kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	dag/kg <sup>3</sup>	kg/kg		
<b>TG</b>	4.92	0.4	0	0.22	0.03	0.39	3.4	0.25	0.64	3.65	6.8	60.39	1.6	6.8	0.056	0.724	0.042	0.233

pH em H<sub>2</sub>O - relação 1: 2,5; Extrator P, K - Mehlich-1; Extrator de Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> - KCl (1mol/L); Al<sup>3+</sup> é chamado de acidez trocável e é quantificado por titulação; H + Al é a acidez potencial extraída por uma solução de acetato de cálcio (0,5 mol / L) a pH 7; SB - Soma das bases trocáveis; CTC (t) = capacidade de troca catiônica no pH real do solo; CTC (T) = capacidade de troca catiônica a pH 7,0; V = Índice de Saturação de Bases; m = Índice de Saturação de Alumínio; M.O - Matéria Orgânica – C.org\*1.724 –Walkley-Black ; P-rem = Fósforo restante; N - N total - Digestão sulfúrica – Destilação Kjeldhal.

**Tabela 2:** Promoção de crescimento de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculados com isolados de bactérias fixadoras de nitrogênio de solo rizosférico, e crescidas por 120 dias em casa de vegetação sendo avaliados Altura, N° de folhas, MSF, MSC, MSPA, MSR e MST.

Isolados	Altura (cm)	Aumento (%)	N° de folhas	Aumento (%)	MSF (g)	Aumento (%)	MSC (g)	Aumento (%)	MSPA (g)	Aumento (%)	MSR (%)	Aumento (%)	MST (g)	Aumento (%)
LEM 1	42.00 a	48.58	109.66 a	35.39	4.72 a	347.09	2.04 a	498.92	6.77 b	383.50	3.33 b	700.08	10.10 b	456.77
LEM 2	29.83 b	-	72.66 b	-	2.07 b	-	0.70 b	-	2.77 e	97.91	0.83 c	-	3.60 d	-
LEM 3	33.66 a	29.47	113.00 a	39.51	3.33 a	214.91	1.75 a	413.60	3.87 d	176.31	1.98 c	-	7.06 c	289.13
LEM 4	26.00 b	-	58.50 b	-	1.44 b	-	0.87 b	-	2.31 e	65.21	0.64 c	-	2.95 d	-
LEM 5	29.83 b	-	123.00 a	51.85	3.95 a	273.90	1.51 a	344.03	6.87 b	390.64	2.46 b	490.65	7.93 c	336.92
LEM 6	29.50 b	-	74.33 b	-	1.83 b	-	0.67 b	-	2.50 e	45.25	0.80 c	-	3.31 d	-
LEM 7	31.83 b	-	123.00 a	51.85	4.31 a	307.78	1.68 a	370.16	5.91 c	322.46	1.67 c	-	7.60 c	318.87
LEM 8	34.50 a	22.04	104.00 a	28.39	3.37 a	219.38	1.14 b	-	5.23 c	279.71	1.98 c	-	6.50 c	258.18
LEM 9	38.33 a	35.59	118.33 a	46.09	2.99 b	-	1.23 b	-	5.21 c	272.36	1.64 c	-	5.86 c	-
LEM 10	39.26 a	38.88	101.00 a	24.69	4.21 a	298.58	1.76 a	416.63	5.98 c	326.82	2.75 b	561.55	8.73 c	381.21
LEM 11	40.33 a	42.66	99.00 b	22.22	3.02 b	-	1.31 b	-	3.23 d	130.82	2.10 b	422.54	6.51 c	258.99
LEM 12	31.50 b	-	60.66 b	-	4.37 a	313.14	1.55 a	354.89	5.92 c	322.79	1.66 c	-	7.58 c	317.93
LEM 13	25.66 b	-	100.00 a	23.46	2.14 b	-	0.65 b	-	1.11 f	-	1.32 c	-	4.12 d	-
LEM 14	34.26 a	21.19	104.00 a	28.39	3.96 a	274.95	1.76 a	418.98	7.21 b	415.06	2.69 b	545.24	8.42 c	364.13
LEM 15	38.83 a	37.35	94.33 b	-	3.24 a	206.49	1.76 a	418.00	5.97 c	326.39	3.61 b	766.67	8.62 c	374.94
LEM 16	39.00 a	37.96	89.00 b	-	4.12 a	289.82	1.56 a	360.18	6.73 b	380.91	1.85 c	-	7.54 c	315.95
LEM 17	31.76 b	-	84.50 b	-	3.72 a	251.97	1.16 b	-	4.89 c	249.29	2.53 b	508.79	7.42 c	309.28
LEM 18	33.66 a	19.07	118.33 a	46.09	3.31 a	213.62	1.17 b	-	3.21 d	128.50	2.23 b	437.01	6.53 c	270.93
LEM 19	38.00 a	34.42	110.66 a	36.63	4.37 a	313.43	1.54 a	353.72	7.18 b	412.86	2.19 b	404.64	8.02 c	342.02
LEM 20	31.00 b	-	102.00 a	25.93	2.89 b	-	1.1 b	-	2.66 e	90.00	1.70 c	-	5.70 d	-
LEM 21	29.50 b	-	95.50 b	-	2.47 b	-	0.96 b	-	4.27d	204.86	1.16 c	-	4.60 d	-
LEM 22	26.50 b	-	106.00 a	30.86	2.87 b	-	1.02 b	-	5.36 c	282.52	1.22 c	-	5.11 d	-
LEM 23	36.33 a	28.51	93.66 b	-	3.39 a	220.83	1.55 a	355.48	6.07 c	333.68	1.57 c	-	6.51 c	259.05
LEM 24	36.76 a	30.03	131.00 a	61.73	4.44 a	320.36	1.9 a	458.41	6.35 c	353.45	2.49 b	497.12	8.83 c	386.96
LEM 25	25.00 b	-	56.50 b	-	1.78 b	-	0.66 b	-	3.37 d	140.98	1.46 c	-	4.83 d	-
LEM 26	30.83 b	-	60.66 b	-	2.11 b	-	0.56 b	-	3.03 d	116.50	0.76 c	-	3.45 d	-
LEM 27	37.66 a	33.22	153.33 a	89.30	4.81 a	355.69	1.93 a	468.79	6.76 b	382.67	3.22 b	672.18	9.97 b	449.72
LEM 28	38.00 a	34.42	125.00 a	54.32	2.74 b	-	1.20 b	-	3.95 d	182.00	1.84 c	-	5.68 c	-
LEM 29	43.66 a	54.44	176.66 a	118.11	6.5 a	515.22	2.76 a	710.18	9.27 a	561.93	5.15 a	1.136.93	14.42 a	694.77
LEM 30	30.50 b	-	101.00 a	24.69	2.57 b	-	1.04 b	-	3.61 d	157.89	1.30 c	-	4.91 d	-
LEM 31	26.33 b	-	70.33 b	-	1.62 b	-	0.61 b	-	1.39 f	-	0.69 c	-	2.93 d	-
LEM 32	25.50 b	-	85.00 b	-	1.07 b	-	0.36 b	-	1.44 e	3.11	0.58 c	-	2.02 d	-
LEM 33	43.50 a	53.87	110.50 a	36.42	3.63 a	243.30	1.57 a	362.04	5.21 c	271.79	2.78 b	567.87	7.99 c	340.22
LEM 34	42.33 a	49.74	118.50 a	46.29	2.90 b	-	1.16 b	-	4.07 d	190.95	2.59 b	521.90	6.66 c	267.31
LEM 35	32.00 b	-	130.50 a	61.11	3.52 a	232.78	1.47 a	332.09	4.99 c	256.54	1.78 c	-	6.77 c	273.39

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 2:** Continuação

Isolados	Altura (cm)	Aumento (%)	N° de folhas	Aumento (%)	MSF (g)	Aumento (%)	MSC (g)	Aumento (%)	MSPA (g)	Aumento (%)	MSR (%)	Aumento (%)	MST (g)	Aumento (%)
LEM 36	34.00 a	20.27	83.50 b	-	2.31 b	-	0.89 b	-	3.21 d	129.18	2.77 b	565.39	5.98 c	229.64
LEM 37	30.00 b	-	115.00 a	41.98	1.93 b	-	0.75 b	-	2.69 e	92.29	1.04 c	-	3.64 d	-
LEM 38	30.00 b	-	93.00 b	-	2.45 b	-	0.78 b	-	3.24 d	131.11	1.55 c	-	4.78 d	-
LEM 39	24.00 b	-	43.00 b	-	1.43 b	-	0.41 b	-	3.36 e	147.19	0.74 c	-	2.58 d	-
LEM 40	32.16 b	-	68.33 b	-	2.53 b	-	0.92 b	-	3.46 d	147.19	1.08 c	-	4.54 d	-
LEM 41	38.26 a	35.34	130.50 a	61.11	4.53 a	328.36	1.65 a	387.18	6.19 c	342.14	2.30 b	451.72	8.49 c	367.79
LEM 42	25.00 b	-	91.50 b	-	2.45 b	-	0.67 b	-	4.31 d	207.89	1.03 c	-	4.16 d	-
LEM 43	29.66 b	-	69.00 b	-	1.80 b	-	0.85 b	-	3.33 d	138.11	1.19 c	-	3.84 d	-
LEM 44	34.00 a	20.27	81.00 b	-	3.28 a	210.62	1.1 b	-	3.04 d	117.18	1.92 c	-	6.31 c	247.86
LEM 45	31.66 b	-	109.00 a	34.57	3.53 a	233.78	1.15 b	-	5.20 c	271.39	1.66 c	-	6.35 c	250.12
LEM 46	33.50 a	18.50	107.00 a	32.09	3.71 a	251.53	1.24 b	-	4.23 d	202.36	1.52 c	-	6.48 c	257.23
LEM 47	35.16 a	24.37	128.00 a	58.03	2.99 b	-	1.09 b	-	4.08 d	191.41	1.25 c	-	5.33 d	-
LEM 48	28.66 b	-	121.00 a	49.38	2.74 b	-	1.14 b	-	2.78 e	98.23	0.96 c	-	4.85 d	-
LEM 49	20.00 b	-	69.50 b	-	1.58 b	-	0.57 b	-	2.80 e	99.93	0.54 c	-	2.60 d	-
CONT	28.27 b	-	81.00 b	-	1.06 b	-	0.34 b	-	1.40 f	-	0.42 c	-	1.82 d	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 3:** Conteúdo de N, P e K da parte aérea de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculados com isolados de bactérias promotoras de crescimento de plantas de solo rizosférico, e crescidas por 120 dias em casa de vegetação.

Conteúdo dos macronutrientes da parte aérea da planta de <i>Eucalyptus</i>												
Isolados	Conteúdo N (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo P (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo K (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 1	97.66a	341.7	0.469a	425.7	3.94a	405.27	11.703a	364.6	63.73a	379.96	0.728a	391.6
LEM 2	43.76b	-	0.176b	-	1.51b	-	5.107b	-	28.30b	-	0.273b	-
LEM 3	93.45a	322.66	0.278a	211.8	2.83a	262.26	9.156a	263.5	47.00a	253.97	0.551a	271.9
LEM 4	40.44b	-	0.134b	-	1.73b	-	3.137b	-	26.74b	-	0.200b	-
LEM 5	89.86a	306.42	0.356a	298.4	3.59a	359.83	8.512a	237.9	59.52a	348.24	0.502a	239.2
LEM 6	43.84b	-	0.144b	-	1.27b	-	4.950b	-	25.78b	-	0.243b	-
LEM 7	116.89a	428.67	0.307a	243.6	4.12a	428.68	9.096a	261.1	62.74a	372.56	0.573a	287.0
LEM 8	73.76a	233.6	0.277a	209.9	2.45b	-	8.385a	232.9	49.05a	269.39	0.416b	-
LEM 9	72.15a	226.32	0.249b	-	2.10b	169.12	8.694a	245.1	40.26a	203.21	0.454b	-
LEM 10	106.05a	379.65	0.339a	280.2	4.09a	424.96	8.885a	252.7	71.25a	436.65	0.510a	244.7
LEM 11	73.55a	232.65	0.256b	-	2.78a	257.04	6.841b	-	43.37a	226.6	0.435b	-
LEM 12	106.53a	381.82	0.336a	276.8	3.66a	369.32	9.852a	291.1	57.30a	331.58	0.614a	314.5
LEM 13	47.95b	-	0.165b	-	1.28b	-	6.133b	-	30.60b	-	0.257b	-
LEM 14	85.57a	287.02	0.386a	332.7	3.42a	339.08	9.665a	283.7	46.93a	253.47	0.707a	377.3
LEM 15	77.13a	248.85	0.328a	267.3	2.37b	-	10.604a	321.0	45.62a	243.61	0.551a	271.9
LEM 16	72.58a	228.27	0.446a	399.9	3.18a	308.24	10.254a	307.0	59.88a	350.97	0.549a	270.7
LEM 17	73.00a	230.17	0.328a	267.3	2.07b	-	11.589a	360.0	50.42a	279.74	0.475a	220.8
LEM 18	64.57b	-	0.319a	257.9	2.62b	235.97	7.856a	211.9	44.99a	238.86	0.450b	-
LEM 19	83.49a	277.61	0.428a	379.0	2.90a	271.41	12.258a	386.6	61.13a	360.41	0.576a	288.9
LEM 20	65.16b	-	0.249b	-	2.75a	252.85	5.806b	-	42.56a	220.52	0.378b	-
LEM 21	61.23b	176.93	0.194b	-	1.72b	-	6.916b	-	36.21b	-	0.333b	-
LEM 22	75.16a	239.94	0.205b	-	2.52b	223.55	6.263b	-	42.58a	220.72	0.359b	-
LEM 23	74.11a	235.19	0.334a	273.7	2.67b	-	9.164a	263.8	43.62a	228.5	0.577a	290.0
LEM 24	90.75a	310.45	0.444a	397.5	4.19a	436.95	10.078a	300.1	58.89a	343.53	0.710a	379.3
LEM 25	41.38b	87.16	0.145b	-	1.62b	-	3.711b	-	28.42b	-	0.211b	-
LEM 26	51.33b	-	0.142b	-	1.96b	-	3.951b	-	32.85b	-	0.219b	-
LEM 27	104.54a	372.82	0.438a	390.0	3.63a	365.4	12.826a	409.1	60.84a	358.23	0.763a	415.0
LEM 28	69.00a	212.08	0.227b	-	2.25b	-	6.949b	-	42.44a	219.61	0.368b	-
LEM 29	126.46a	472.06	0.683a	665.0	4.82a	517.66	17.864a	609.1	81.38a	512.87	1.060a	616.2
LEM 30	55.39b	-	0.236b	-	2.52b	-	5.247b	-	42.31a	218.66	0.308b	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 3:** Continuação

Conteúdo dos macronutrientes da parte aérea da planta de <i>Eucalyptus</i>												
Isolados	Conteúdo N (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo P (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo K (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 31	36.24b	-	0.140b	-	1.64b	-	3.071b	-	26.64b	-	0.189b	-
LEM 32	24.27b	-	0.086b	-	0.92b	-	2.272b	-	18.56b	-	0.113b	-
LEM 33	80.84a	265.63	0.339a	279.4	2.44b	-	11.105a	340.8	45.09a	239.59	0.603a	307.3
LEM 34	70.20a	217.50	0.237b	-	2.12b	-	7.927a	214.7	43.13a	224.84	0.387b	-
LEM 35	91.19a	312.44	0.275a	208.4	3.72a	376.31	6.837b	-	58.72a	342.25	0.435b	-
LEM 36	49.73b	-	0.209b	-	2.27b	-	4.638b	-	37.09b	-	0.288b	-
LEM 37	45.75b	-	0.167b	-	1.93b	-	3.854b	-	31.30b	-	0.234b	-
LEM 38	59.04b	-	0.177b	-	1.99b	-	5.260b	-	37.45b	-	0.280b	-
LEM 39	36.25b	-	0.094b	-	1.05b	-	3.326b	-	21.32b	-	0.160b	-
LEM 40	59.51b	-	0.206b	-	2.11b	-	5.758b	-	37.96b	-	0.318b	-
LEM 41	100.90a	356.35	0.380a	325.3	3.09a	296.72	12.574a	399.1	52.83a	297.89	0.725a	389.8
LEM 42	58.18b	-	0.168b	-	1.86b	-	5.291b	-	30.31b	-	0.328b	-
LEM 43	43.40b	-	0.168b	-	1.96b	-	3.634b	-	29.33b	-	0.240b	-
LEM 44	65.33b	-	0.303a	239.8	1.97b	-	9.798a	288.9	45.00a	238.88	0.435b	-
LEM 45	72.81a	229.31	0.309a	245.6	2.62b	-	8.432a	234.7	52.64a	296.49	0.423b	-
LEM 46	74.50a	236.95	0.342a	283.2	3.21a	311.17	7.769a	208.4	55.93a	321.25	0.442b	-
LEM 47	59.25b	-	0.284a	217.6	2.02b	-	8.583a	240.7	40.76a	206.95	0.416b	-
LEM 48	64.41b	-	0.242b	-	2.38b	-	6.490b	-	40.48a	204.89	0.381b	-
LEM 49	34.78b	-	0.121b	-	1.18b	-	3.581b	-	22.43b	-	0.188b	-
CONT	22.11b	-	0.089b	-	0.78b	-	2.519b	-	13.28b	-	0.148b	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 4:** Conteúdo de Ca e Mg da parte aérea de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculados com isolados de bactérias promotoras de crescimento de plantas de solo rizosférico, e crescidas por 120 dias em casa de vegetação.

Conteúdo dos macronutrientes da parte aérea da planta de <i>Eucalyptus</i>								
Isolados	Conteúdo Ca (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo Mg (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 1	48.98a	474.27	0.941a	309.8	9.24a	376.03	4.959a	390.9
LEM 2	16.46b	-	0.469b	-	4.28b	-	1.793b	-
LEM 3	27.88b	226.96	0.928a	304.0	7.25a	273.4	3.584a	254.8
LEM 4	14.84b	-	0.361b	-	3.09b	-	1.734b	-
LEM 5	28.57b	-	1.061a	362.0	8.71a	348.68	3.433a	239.8
LEM 6	12.75b	-	0.496b	-	3.16b	-	1.993b	-
LEM 7	39.22a	359.86	0.894a	289.2	9.36a	382.19	3.884a	284.4
LEM 8	24.26b	-	0.843a	267.0	5.90a	204.13	3.466a	243.1
LEM 9	27.95b	227.75	0.640b	-	6.14a	216.39	2.916b	-
LEM 10	38.20a	347.89	0.955a	315.9	8.90a	358.3	4.053a	301.2
LEM 11	26.66b	-	0.717a	212.2	6.68a	244.24	2.838b	-
LEM 12	34.37a	303	1.022a	345.1	8.09a	316.74	4.598a	355.2
LEM 13	13.58b	59.2	0.581b	-	3.07b	-	2.587b	-
LEM 14	36.13a	323.69	0.912a	297.1	6.97a	259.23	4.717a	366.9
LEM 15	30.75a	260.5	0.818a	256.2	6.53a	236.17	3.860a	282.1
LEM 16	36.79a	331.36	0.906a	294.6	7.60a	291.64	4.356a	331.2
LEM 17	29.81a	249.57	0.822a	257.8	6.68a	244.03	3.581a	254.4
LEM 18	27.50b	-	0.738a	221.6	6.17a	217.82	3.333a	229.9
LEM 19	33.29a	290.38	1.083a	371.6	7.54a	288.45	4.724a	367.7
LEM 20	25.55b	-	0.626b	-	4.93b	-	3.251a	221.8
LEM 21	21.90b	-	0.543b	-	4.87b	-	2.442b	-
LEM 22	29.24a	242.81	0.524b	-	5.37b	-	2.915b	-
LEM 23	26.10b	-	0.944a	311.2	5.68a	192.48	4.311a	326.8
LEM 24	46.37a	443.71	0.871a	279.3	8.57a	341.36	4.815a	376.6
LEM 25	21.35b	-	0.281b	-	3.87b	-	1.556b	-
LEM 26	20.31b	-	0.359b	-	3.98b	-	1.832b	-
LEM 27	39.14a	358.9	1.173a	410.8	7.75a	299.25	5.904a	484.5
LEM 28	25.36b	-	0.623b	-	5.75a	196.25	2.816b	-
LEM 29	51.90a	508.59	1.671a	627.8	11.37a	485.62	7.564a	648.8
LEM 30	24.01b	-	0.547b	-	5.05b	-	2.607b	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 4:** Continuação

Conteúdo dos macronutrientes da parte aérea da planta de Eucalyptus								
Isolados	Conteúdo Ca (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo Mg (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 31	16.55b	-	0.311b	-	3.30b	-	1.535b	-
LEM 32	10.61b	-	0.197b	-	2.27b	-	0.928b	-
LEM 33	28.42b	-	0.955a	315.8	7.22a	272.07	3.751a	271.4
LEM 34	26.69b	-	0.630b	-	6.35a	227.03	2.648b	-
LEM 35	30.40a	256.41	0.823a	258.3	6.91a	256.17	3.739a	270.1
LEM 36	23.77b	-	0.437b	-	4.95b	-	2.089b	-
LEM 37	16.21b	-	0.449b	-	3.94b	-	1.897b	-
LEM 38	19.96b	-	0.528b	-	4.62b	-	2.265b	-
LEM 39	11.66b	-	0.296b	-	2.71b	-	1.257b	-
LEM 40	21.72b	-	0.559b	-	4.45b	-	2.717b	-
LEM 41	41.34a	384.74	0.930a	304.8	8.33a	328.99	4.601a	355.5
LEM 42	19.43b	-	0.504b	-	4.55b	-	2.155b	-
LEM 43	18.32b	-	0.401b	-	4.33b	-	1.634b	-
LEM 44	26.48b	-	0.729a	217.7	6.07a	212.83	3.171a	213.9
LEM 45	35.73a	318.95	0.624b	-	6.25a	222.13	3.522a	248.6
LEM 46	32.09a	276.31	0.787a	242.7	7.80a	301.86	3.209a	217.7
LEM 47	23.32b	-	0.714a	211.1	5.74a	195.88	2.925b	-
LEM 48	25.44b	-	0.599b	-	5.40b	-	2.847b	-
LEM 49	12.68b	-	0.332b	-	2.61b	-	1.613b	-
CONT	8.53b	-	0.230b	-	1.94b	-	1.010b	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 5:** Conteúdo de N, P e K da raiz de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculados com isolados de bactérias promotoras de crescimento de plantas de solo rizosférico, e crescidas por 120 dias em casa de vegetação.

Isolados	Conteúdo dos macronutrientes da raiz da planta de <i>Eucalyptus</i>											
	Conteúdo N (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo P (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo K (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 1	28.62a	511.19	0.393b	958.4	1.84b	535.04	6.053b	910.2	25.52a	582.45	0.436b	828.9
LEM 2	9.09b	-	0.077c	-	0.57c	-	1.230c	-	9.28b	-	0.077c	-
LEM 3	22.71a	385.02	0.175c	-	1.50b	417.22	2.624c	-	20.19a	439.9	0.195c	-
LEM 4	6.91b	-	0.059c	-	0.56c	-	0.733c	-	5.63b	-	0.073c	-
LEM 5	24.61a	425.49	0.247b	563.3	1.45b	398.53	4.378b	630.7	18.49a	394.63	0.331b	604.6
LEM 6	10.16b	-	0.064c	-	0.64c	-	1.021c	-	10.45b	-	0.062c	-
LEM 7	19.28a	311.65	0.148c	-	1.57b	440.31	1.934c	-	21.21a	467.33	0.134c	-
LEM 8	19.83a	323.56	0.199c	-	1.41b	386.89	2.785c	-	14.20a	279.89	0.278b	491.4
LEM 9	15.69b	-	0.171c	-	0.99c	-	2.758c	-	15.92a	325.69	0.170c	-
LEM 10	25.63a	447.24	0.298b	701.9	1.72b	493.45	4.581b	664.6	18.91a	405.8	0.408b	768.2
LEM 11	22.96a	390.41	0.207c	-	1.51b	420.44	3.238c	-	23.55a	529.76	0.202c	-
LEM 12	17.39a	271.4	0.160c	-	1.46b	402.12	1.907c	-	12.97b	-	0.214c	-
LEM 13	13.42b	-	0.131c	-	1.03c	-	1.722c	-	17.18a	359.5	0.103c	-
LEM 14	30.91a	560.09	0.235b	531.0	1.96b	573.44	3.700b	517.6	21.78a	482.47	0.346b	636.3
LEM 15	40.47a	764.31	0.325b	773.3	2.83a	873.7	4.653b	676.5	27.09a	624.47	0.494b	950.9
LEM 16	17.95a	283.23	0.199c	-	1.40b	380.65	2.528c	-	18.84a	403.86	0.198c	-
LEM 17	25.33a	440.93	0.263b	607.2	1.27b	338.3	5.146b	758.8	19.72a	427.37	0.335b	613.3
LEM 18	19.40a	314.31	0.259b	595.8	1.42b	390.42	3.531b	489.4	24.25a	548.57	0.207c	-
LEM 19	21.44a	357.79	0.207c	-	1.58b	443.83	2.805c	-	16.75a	348.03	0.266c	-
LEM 20	18.62a	297.56	0.158c	-	1.53b	428.09	1.929c	-	16.11a	330.96	0.188c	-
LEM 21	9.98b	-	0.136c	-	0.71c	-	1.911c	-	11.89b	-	0.116c	-
LEM 22	12.27b	-	0.121c	-	1.21b	316.18	1.277c	-	11.66b	-	0.132c	-
LEM 23	18.67a	298.62	0.133c	-	0.97c	-	2.608c	-	14.16a	278.64	0.175c	-
LEM 24	18.72a	299.85	0.333c	-	1.72b	490.91	3.640b	507.6	18.56a	396.37	0.344c	-
LEM 25	12.93b	-	0.166c	-	0.89c	-	2.409c	-	13.41b	-	0.159c	-
LEM 26	8.07b	-	0.073c	-	0.65c	-	0.924c	-	8.79b	-	0.067c	-
LEM 27	31.81a	579.29	0.327b	781.1	1.92b	559.56	5.500b	818.0	16.80a	349.18	0.620b	1219.0
LEM 28	20.21a	331.66	0.168c	-	1.22b	321.5	2.767c	-	17.50a	368.06	0.198c	-
LEM 29	35.64a	661.18	0.753a	1925.0	3.12a	974.14	8.554a	1327.6	19.18a	413.04	1.558a	3217.0
LEM 30	14.62b	-	0.117c	-	1.04c	-	1.641c	-	15.33a	309.99	0.111c	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 5:** Continuação.

Conteúdo dos macronutrientes da raiz da planta de <i>Eucalyptus</i>												
Isolados	Conteúdo N (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo P (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo K (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 31	7.18b	-	0.066c	-	0.53c	-	0.900c	-	8.35b	-	0.057c	-
LEM 32	4.77b	-	0.070c	89.1	0.46c	-	0.730c	-	6.99b	-	0.048c	-
LEM 33	22.73a	385.48	0.342b	819.3	1.38b	374.59	5.650b	842.9	16.63a	344.76	0.468b	896.2
LEM 34	26.15a	458.54	0.258b	594.0	1.53b	427.32	4.413b	636.5	22.18a	493.27	0.304b	548.3
LEM 35	18.95a	304.75	0.168c	-	1.42b	388.14	2.259c	-	20.23a	441.17	0.159c	-
LEM 36	23.62a	404.4	0.329b	784.3	1.65b	467.72	4.794b	700.1	19.83a	430.22	0.398b	747.9
LEM 37	11.96b	-	0.092c	-	0.77c	-	1.508c	-	11.08b	-	0.099c	-
LEM 38	15.33b	-	0.157c	-	1.22b	319	1.986c	-	16.10a	330.63	0.150c	-
LEM 39	6.05b	-	0.090c	-	0.48c	-	1.146c	-	8.92b	-	0.061c	-
LEM 40	12.01b	-	0.098c	-	0.78c	-	1.525c	-	13.66b	-	0.087c	-
LEM 41	20.78a	343.82	0.255b	586.0	1.22b	320.41	4.343b	624.8	18.29a	389.21	0.298b	534.3
LEM 42	12.00b	-	0.089c	-	0.73c	-	1.482c	-	11.30b	-	0.095c	-
LEM 43	12.65b	-	0.113c	-	0.99c	-	1.435c	-	10.05b	-	0.143c	-
LEM 44	22.32a	376.59	0.167c	-	1.03c	-	3.638b	507.2	17.11a	357.67	0.223c	-
LEM 45	19.03a	306.42	0.148c	-	1.27b	337.01	2.209c	-	16.79a	349.1	0.167c	-
LEM 46	16.11b	-	0.144c	-	1.11c	-	2.086c	-	15.16a	305.57	0.153c	-
LEM 47	14.78b	-	0.107c	-	1.02c	-	1.582c	-	12.04b	222.07	0.134c	-
LEM 48	12.53b	-	0.075c	-	0.89c	-	1.051c	-	11.19b	-	0.086c	-
LEM 49	6.18b	-	0.049c	-	0.37c	-	0.818c	-	5.49b	-	0.055c	-
CONT	4.68b	-	0.037c	-	0.29c	-	0.599c	-	3.74b	-	0.047c	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 6:** Conteúdo de Ca e Mg da raiz de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculados com isolados de bactérias promotoras de crescimento de plantas de solo rizosférico, e crescidas por 120 dias em casa de vegetação.

Conteúdo dos macronutrientes da raiz da planta de <i>Eucalyptus</i>								
Isolados	Conteúdo Ca (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo Mg (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 1	8.80b	537.55	1.269a	898.7	2.99b	382.09	4.073b	1301.5
LEM 2	2.64c	-	0.268c	-	1.19c	-	0.601c	-
LEM 3	6.31c	-	0.627c	-	2.72b	338.57	1.552c	-
LEM 4	2.47c	-	0.165c	-	0.95c	-	0.439c	-
LEM 5	7.09b	413.54	0.903b	611.0	2.72b	339.21	2.231b	667.8
LEM 6	2.88c	-	0.226c	-	1.40c	-	0.468c	-
LEM 7	6.66b	382.76	0.438c	-	3.10b	400.21	0.977c	-
LEM 8	4.49c	-	0.895b	604.3	2.06c	-	1.959c	-
LEM 9	5.30c	-	0.509c	-	2.74b	342.39	1.000c	-
LEM 10	8.17b	491.88	0.954b	650.4	3.37b	444.32	2.422b	733.4
LEM 11	5.75c	-	0.833b	555.2	4.29b	591.55	1.121c	-
LEM 12	6.86b	396.94	0.416c	-	2.57b	315.44	1.169c	-
LEM 13	4.08c	-	0.432c	-	1.71c	-	1.061c	-
LEM 14	8.95b	548.44	0.847b	566.3	2.71b	337.98	2.689b	825.4
LEM 15	13.69a	891.43	1.017b	700.5	7.60a	1127	1.726c	-
LEM 16	5.51c	-	0.628c	-	2.38b	284.83	1.526c	-
LEM 17	8.24b	496.84	0.804b	532.8	2.73b	340.51	2.543b	775.1
LEM 18	8.19b	493.55	0.613c	-	2.23c	-	2.459b	746.2
LEM 19	7.01b	408.04	0.645c	-	2.17c	-	2.121b	629.7
LEM 20	5.98c	-	0.488c	-	1.90c	-	1.568c	-
LEM 21	4.58c	-	0.322c	-	1.68c	-	0.862c	-
LEM 22	4.41c	-	0.340c	-	1.74c	-	0.881c	-
LEM 23	4.76c	-	0.520c	-	2.17c	-	1.157c	-
LEM 24	7.14b	417.17	0.947b	644.9	2.39b	285.05	2.836b	875.7
LEM 25	6.89b	399.32	0.331c	-	1.81c	-	1.190c	-
LEM 26	3.03c	-	0.193c	-	1.18c	-	0.509c	-
LEM 27	8.44b	511.59	1.256a	888.6	2.74b	341.42	4.083b	1304.9
LEM 28	6.49b	369.9	0.523c	-	2.93b	373.32	1.159c	-
LEM 29	14.77a	969.69	1.805a	1320.7	3.62b	483.97	7.470a	2470.3
LEM 30	3.95c	-	0.476c	-	1.77c	-	1.028c	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 6:** Continuação.

Conteúdo dos macronutrientes da raiz da planta de <i>Eucalyptus</i>								
Isolados	Conteúdo Ca (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo Mg (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 31	2.36c	-	0.203c	-	0.91c	-	0.527c	-
LEM 32	1.9c	-	0.179c	-	1.16c	-	0.291c	-
LEM 33	5.98c	-	1.366a	975.3	2.75b	343.25	2.857b	883.2
LEM 34	10.16b	635.97	0.664c	-	3.07b	395.05	2.219b	663.4
LEM 35	4.56c	-	0.702c	-	2.87b	362.88	1.127c	-
LEM 36	8.34b	504.33	0.930b	631.6	2.67b	331.52	3.038b	945.3
LEM 37	5.01c	-	0.223c	-	1.87c	-	0.610c	-
LEM 38	5.36c	-	0.462c	-	2.44b	294.03	0.996c	-
LEM 39	2.35c	-	0.234c	-	0.88c	-	0.623c	-
LEM 40	3.67c	-	0.324c	-	1.53c	-	0.770c	-
LEM 41	10.28b	644.91	0.529c	-	2.65b	327.81	2.003c	-
LEM 42	3.95c	-	0.273c	-	1.54c	147.77	0.698c	-
LEM 43	5.41c	-	0.271c	-	1.73c	-	0.872c	-
LEM 44	6.12c	-	0.615c	-	2.74b	342.87	1.371c	-
LEM 45	5.97c	-	0.478c	-	3.23b	421.3	0.870c	-
LEM 46	5.13c	-	0.453c	-	2.21c	-	1.065c	-
LEM 47	4.64c	-	0.341c	-	1.30c	-	1.256c	-
LEM 48	3.28c	-	0.288c	-	1.55c	-	0.630c	-
LEM 49	2.09c	-	0.146c	-	0.84c	-	0.367c	-
CONT	1.38c	-	0.127c	-	0.62c	-	0.291c	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 7:** Conteúdo total de N, P e K e a eficiência de utilização de macronutrientes de plantas de *Eucaliptos grandis* inoculados com isolados de bactérias promotoras de crescimento de plantas de solo rizosférico, e crescidas por 120 dias em casa de vegetação.

Conteúdo dos macronutrientes total da planta de eucaliptos e eficiência												
Isolados	Conteúdo N (mg)	Aumento (%)	Efic.	Aumento (%)	Conteúdo P (mg)	Aumento (%)	Efic.	Aumento (%)	Conteúdo K (mg)	Aumento (%)	Efic.	Aumento (%)
LEM 1	126.28a	371.41	0.81b	556.6	5.79a	442.41	17.69b	472.6	89.24a	424.45	1.15b	490.6
LEM 2	52.85c	-	0.25d	-	2.08c	-	6.27d	-	37.58b	-	0.35d	-
LEM 3	116.16a	333.63	0.43c	249.9	4.33b	305.76	11.56c	274.2	67.19a	294.82	0.74b	282.0
LEM 4	47.36c	-	0.19d	-	2.28c	-	3.85d	-	32.36b	-	0.27d	-
LEM 5	114.47a	327.30	0.56b	353.9	5.03a	372.01	12.77c	313.3	78.01a	358.43	0.81b	316.8
LEM 6	54.00c	-	0.20d	-	1.91c	-	5.74d	-	36.23b	-	0.30d	-
LEM 7	136.16a	408.30	0.43c	249.3	5.69a	433.74	10.60c	243.0	83.96a	393.38	0.70c	259.1
LEM 8	93.59b	249.38	0.45c	265.5	3.86b	262.27	11.00c	256.1	63.25a	271.70	0.67c	243.8
LEM 9	87.84b	227.90	0.39c	217.8	3.08c	-	11.31c	266.1	56.18a	230.12	0.62c	219.9
LEM 10	131.68a	391.55	0.58b	370.3	5.82a	445.49	13.14c	325.5	90.17a	429.87	0.85b	337.0
LEM 11	96.52b	260.29	0.44c	256.1	4.30b	302.81	9.98d	-	66.91a	293.22	0.64c	226.4
LEM 12	123.92a	362.61	0.47c	281.7	5.12a	379.93	11.45c	270.5	70.28a	312.99	0.82b	321.7
LEM 13	61.37c	-	0.28d	-	2.30c	-	7.63d	-	47.79b	-	0.36d	-
LEM 14	116.48a	334.81	0.61b	392.7	5.38a	404.47	13.19c	327.0	68.71a	303.79	1.04b	431.8
LEM 15	117.61a	339.02	0.63b	411.0	5.20a	387.74	14.38c	365.6	72.71a	327.30	1.02b	425.9
LEM 16	90.52b	237.92	0.63b	410.8	4.58b	329.41	12.57c	306.7	78.72a	362.59	0.74b	280.8
LEM 17	98.33b	267.05	0.56b	355.0	3.34c	-	16.63b	438.2	70.14a	312.18	0.79b	305.5
LEM 18	83.97b	213.45	0.55b	343.9	4.05b	279.23	11.34c	267.0	69.24a	306.91	0.66c	236.8
LEM 19	104.92b	291.68	0.62b	399.2	4.48b	319.69	14.57c	371.5	77.88a	357.69	0.83b	326.4
LEM 20	83.77b	212.72	0.39c	215.1	4.29b	301.83	7.63d	-	58.67a	244.79	0.56c	185.1
LEM 21	71.21c	-	0.30d	-	2.43c	-	8.73d	-	48.11b	-	0.44d	-
LEM 22	87.43b	226.36	0.30d	-	3.73b	249.93	7.13d	-	54.25b	-	0.49c	149.3
LEM 23	92.77b	246.32	0.46c	272.8	3.64c	-	11.71c	279.2	57.77a	239.52	0.75b	284.2
LEM 24	109.48a	308.67	0.72b	478.7	5.90a	453.56	13.47c	335.9	77.45a	355.14	1.02b	422.6
LEM 25	54.31c	-	0.29d	-	2.51c	-	6.11d	-	41.83b	-	0.37d	-
LEM 26	59.40c	-	0.20d	-	2.61c	-	4.75d	-	41.64b	-	0.29d	-
LEM 27	136.35a	408.98	0.73b	491.1	5.55a	419.94	18.01b	482.8	77.64a	356.24	1.29b	561.5
LEM 28	89.21b	233.01	0.38c	204.9	3.47c	-	9.66d	-	59.94a	252.23	0.56c	188.7
LEM 29	162.10a	505.12	1.29a	941.0	7.94a	644.18	26.22a	748.9	100.56a	490.94	2.11a	985.3
LEM 30	70.02c	-	0.35c	179.2	3.57c	-	6.80d	-	57.64a	238.73	0.42d	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 7:** Continuação.

Conteúdo dos macronutrientes total da planta de eucaliptos e eficiência												
Isolados	Conteúdo N (mg)	Aumento (%)	Efic.	Aumento (%)	Conteúdo P (mg)	Aumento (%)	Efic.	Aumento (%)	Conteúdo K (mg)	Aumento (%)	Efic.	Aumento (%)
LEM 31	43.42c	-	0.20d	-	2.17c	-	3.96d	-	34.99b	-	0.25d	-
LEM 32	29.04c	-	0.14d	-	1.39c	-	2.97d	-	25.55b	-	0.16d	-
LEM 33	103.57b	286.62	0.62b	401.1	3.82b	258.02	16.74b	441.8	61.72a	262.70	1.04b	431.8
LEM 34	96.35b	259.67	0.46c	273.6	3.65c	-	12.31c	298.3	65.31a	283.82	0.69c	252.1
LEM 35	110.14a	311.15	0.42c	239.1	5.13a	381.23	9.01d	-	78.96a	363.99	0.59c	205.0
LEM 36	73.35c	-	0.49c	295.7	3.92b	267.26	9.33d	-	56.92a	234.47	0.64c	231.0
LEM 37	57.71c	-	0.25d	-	2.70c	-	5.25d	-	42.38b	-	0.33d	-
LEM 38	74.37c	-	0.31d	-	3.21c	-	7.15d	-	53.55b	-	0.43d	-
LEM 39	42.29c	-	0.16d	-	1.53c	-	4.40d	-	30.24b	-	0.22d	-
LEM 40	71.52c	-	0.29d	-	2.89c	-	7.19d	-	51.61b	-	0.40d	-
LEM 41	121.68a	354.23	0.59b	379.2	4.32b	304.59	16.79b	443.6	71.12a	317.95	1.02b	421.9
LEM 42	70.18c	-	0.25d	-	2.60c	-	6.74d	-	41.62b	-	0.42d	-
LEM 43	56.05c	-	0.28d	-	2.95c	-	5.03d	-	39.38b	-	0.38d	-
LEM 44	87.65b	227.20	0.47c	276.5	3.00c	-	13.32c	331.3	62.11a	264.98	0.65c	232.5
LEM 45	91.84b	242.85	0.45c	263.3	3.89b	264.77	10.44c	237.8	69.44a	308.05	0.59c	201.4
LEM 46	90.62b	238.27	0.47c	283.0	4.32b	304.99	9.79d	-	71.10a	317.80	0.59c	204.3
LEM 47	74.04c	-	0.39c	211.6	3.04c	-	9.78d	-	52.80b	-	0.54c	179.1
LEM 48	76.93c	-	0.31d	-	3.27c	-	7.29d	-	51.67b	-	0.46d	-
LEM 49	40.96c	-	0.17d	-	1.55c	-	4.40d	-	27.93b	-	0.24d	-
CONT	26.79c	-	0.12d	-	1.07c	-	3.09d	-	17.02b	-	0.19d	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 8:** Conteúdo total de Ca e Mg e a eficiência de utilização de macronutrientes de plantas de *Eucalyptus grandis* inoculados com isolados de bactérias promotoras de crescimento de plantas de solo rizosférico, e crescidas por 120 dias em casa de vegetação.

Conteúdo dos macronutrientes total da planta de eucalyptus e eficiência								
Isolados	Conteúdo Ca (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo Mg (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 1	57.78a	483.09	1.77b	430.7	12.23a	377.56	8.45c	552.8
LEM 2	19.10c	-	0.69c	-	5.47b	-	2.38e	-
LEM 3	34.19b	245.07	1.46b	337.5	9.97a	289.23	5.07c	291.3
LEM 4	17.31c	-	0.50c	-	4.03b	-	2.16e	-
LEM 5	35.66b	259.83	1.77b	430.8	11.43a	346.45	5.52c	326.4
LEM 6	15.63c	-	0.70c	-	4.56b	-	2.41e	-
LEM 7	45.88a	363.05	1.26b	278.4	12.46a	386.61	4.72d	264.5
LEM 8	28.75c	-	1.48b	342.2	7.96b	-	5.34c	312.2
LEM 9	33.26b	235.61	1.04c	-	8.88a	246.94	3.88d	199.5
LEM 10	46.37a	367.95	1.66b	397.9	12.27a	379.19	6.36c	390.9
LEM 11	32.41b	227.06	1.32b	294.7	10.97a	328.34	3.89d	200.8
LEM 12	41.23b	316.09	1.40b	320.2	10.66a	316.49	5.53c	326.9
LEM 13	17.66c	-	0.97c	-	4.78b	-	3.57d	176.1
LEM 14	45.09a	355.00	1.60b	380.0	9.69a	278.34	7.34c	467.2
LEM 15	44.43a	348.40	1.71b	413.0	14.13a	451.80	5.27c	306.9
LEM 16	42.30b	326.88	1.38b	313.7	9.99a	290.05	5.83c	350.6
LEM 17	38.05b	284.02	1.48b	342.2	9.41a	267.43	5.90c	355.5
LEM 18	35.70b	260.25	1.27b	281.7	8.40a	228.13	5.48c	323.0
LEM 19	40.31b	306.77	1.61b	382.4	9.71a	279.18	6.73c	419.7
LEM 20	31.54b	218.25	1.04c	-	6.83b	-	4.76d	267.7
LEM 21	26.48c	-	0.81c	-	6.55b	-	3.24d	150.4
LEM 22	33.65b	239.54	0.78c	-	7.11b	-	3.74d	189.2
LEM 23	30.87b	211.50	1.38b	314.5	7.84b	-	5.42c	318.3
LEM 24	53.51a	440.01	1.46b	338.5	10.95a	327.79	7.14c	451.7
LEM 25	28.24c	-	0.55c	-	5.68b	-	2.70e	-
LEM 26	23.35c	-	0.52c	-	5.16b	-	2.34e	-
LEM 27	47.58a	380.17	2.11b	533.2	10.49a	309.51	9.58b	640.1
LEM 28	31.85b	221.39	1.06c	-	8.68a	239.15	3.95d	204.8
LEM 29	66.67a	572.83	3.14a	839.6	14.99a	485.31	13.96a	978.4
LEM 30	27.96c	-	0.87c	-	6.82b	-	3.59d	177.2

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 8:** Continuação.

Conteúdo dos macronutrientes total da planta de eucalyptus e eficiência								
Isolados	Conteúdo Ca (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)	Conteúdo Mg (mg)	Aumento (%)	Eficiência	Aumento (%)
LEM 31	18.91c	-	0.47c	-	4.22b	-	2.04e	-
LEM 32	12.52c	-	0.33c	-	3.43b	-	1.19e	-
LEM 33	34.40b	247.16	1.86b	458.7	9.97a	289.35	6.41c	394.8
LEM 34	36.85b	271.88	1.22b	264.2	9.42a	267.75	4.78d	269.1
LEM 35	34.95b	252.73	1.32b	294.9	9.78a	282.04	4.82d	272.1
LEM 36	32.12b	224.10	1.15b	245.8	7.62b	-	4.84d	273.7
LEM 37	21.22c	-	0.66c	-	5.81b	-	2.41e	-
LEM 38	25.33c	-	0.91c	-	7.07b	-	3.25d	151.2
LEM 39	14.01c	-	0.48c	-	3.59b	-	1.86e	43.7
LEM 40	25.38c	-	0.82c	-	5.98b	-	3.47d	167.8
LEM 41	51.63a	420.99	1.41b	321.5	10.98a	328.75	6.57c	407.2
LEM 42	23.38c	-	0.74c	-	6.09b	-	2.85e	-
LEM 43	23.73c	-	0.65c	-	6.06b	-	2.48e	-
LEM 44	32.60b	228.98	1.23b	269.1	8.82a	244.34	4.53d	250.1
LEM 45	41.70b	320.81	0.98c	-	9.48a	270.36	4.27d	229.9
LEM 46	37.22b	275.61	1.15b	244.0	10.01a	290.85	4.27d	229.8
LEM 47	27.96c	-	1.02c	-	7.04b	-	4.10d	216.8
LEM 48	28.71c	-	0.83c	-	6.95b	-	3.46d	167.0
LEM 49	14.76c	-	0.46c	-	3.45b	-	1.97e	-
CONT	9.91c	-	0.33c	-	2.56b	-	1.29e	-

Aumentos em porcentagem está sendo apresentado em relação às plantas não inoculadas. Nas mesmas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não se diferem, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.