

RANYER LUCAS CAMPOS AFONSO

BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NO CRESCIMENTO INICIAL DE EUCALIPTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Leonardus Vergütz

Coorientadores: Ivo Ribeiro da Silva
Marliane de Cássia S. da Silva
Rafael da Silva Teixeira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

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

T

A257b Afonso, Ranyer Lucas Campos, 1989-
2020 Bactérias diazotróficas no crescimento inicial de eucalipto /
Ranyer Lucas Campos Afonso. – Viçosa, MG, 2020.
1 dissertação eletrônica (39 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Leonardus Vergütz.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Solos, 2020.

Referências bibliográficas: f. 31-35.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.195>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Nitrogênio - Fixação. 2. Bactérias. 3. Actinobacteria.
I. Vergütz, Leonardus. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Solos. Programa de Pós-Graduação em Solos e
Nutrição de Plantas. III. Título.

CDD 22. ed. 631.84

Bibliotecário(a) responsável: Renata de Fátima Alves CRB6/2578

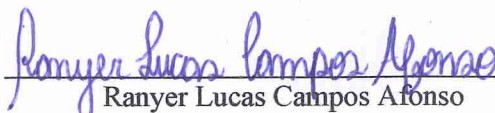
RANYER LUCAS CAMPOS AFONSO

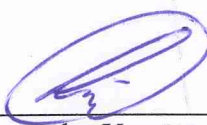
BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NO CRESCIMENTO INICIAL DE EUCALIPTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de fevereiro de 2020.

Assentimento:


Ranyer Lucas Campos Afonso
Autor


Leonardus Vergütz
Orientador

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao meu Deus maravilhoso e único, por estar sempre presente em minha vida, principalmente em meu coração. A certeza da existência de um Pai todo poderoso é que me faz caminhar, ter esperança e contentar com a minha imperfeição, não deixando jamais a vaidade ter voz em minha vida.

À minha mãe Lucilene Antônia de Campos Evangelista Afonso por todas as lutas, ensinamentos e principalmente pela lealdade. Ao meu pai Clever Afonso de Jesus, pela atenção primordial em nossa criação, mantendo sempre a vigilância para que eu e meus irmãos trilhássemos o caminho certo da vida.

Aos meus irmãos Michael, Otávio, Leonnardo, Jhonata e Gaspar (Gasparzinho), pois são a minha base e a certeza de que nunca estarei sozinho. De maneira especial, agradeço ao meu irmão Michael Willian Campos Afonso por todos os esforços para que eu pudesse chegar até aqui. A compreensão e amor desse irmão só poderão ser retribuídos pelas bênçãos de Deus.

À Daieny, pelo companheirismo em momentos importantes.

Aos meus filhos Jhean Lucas Campos Martins, Maria Eduarda Alves de Souza e Emanuely Antônia Alves de Campos Cordeiro Meneses pelos filhos maravilhosos que são.

Às minhas sobrinhas lindas Alana, Cecília, Ágatha, Bella e Heloísa por terem renovado as nossas casas e nossas vidas, nos trazendo tempos de muita paz e amor. Às minhas cunhadas Thalline, Natany, Rabeshi e Laísa.

Às minhas tias Jaqueline e Luciene. Aos meus tios Beto, Rildo, Gaspar (in memoriam) Wagner e Rômulo.

À minha tia Rocilda por ter me ensinado a ler e escrever, pela amizade e carinho.

Ao grande amor da minha vida, minha avó, Francisca Romilda de Campos Evangelista (Meneses) por ter me ensinado a essência de se trabalhar com o solo, a planta e os animais.

Aos amigos irmãos, Edmundo, Talles, Jotinha e Danilo.

Aos amigos Renato (Beijola), Geovane, Ricardo (in memoriam) e Kerlinho (in memoriam).

Agradeço aos amigos Hudson, Fernando Alan e João do Ladinho pela amizade.

Ao Sr. Elias Rafael de Deus e Dona Meire Tolentino pela amizade.

Ao amigo Eder Alves de Souza (in memoriam) por todos os momentos em que estivemos juntos, aprendendo e trabalhando.

Aos amigos do Laboratório de Isótopos Estáveis (LIE), por todos os ensinamentos e momentos compartilhados. Em especial, ao João Milagres, pela rigidez com a qual conduziu meu processo de aprendizado dentro do LIE. Ao Humberto por toda ajuda, paciência e amizade.

Em especial, aos amigos Bernardo Amorim, Ítalo Nunes, Rosemary Firmino, Aymbiré Fonseca, Ésio Castro, Ricardo Miranda, Maria Cardoso, Daniel Nunes, Daniela Costa e Raphael Melo (Mandruvá) pessoas fundamentais para a minha evolução como pesquisador. Amigos que possuem destacada visão humana e de amor ao próximo. Obrigado por vocês existirem!

Aos amigos da secretaria do PPGSNP-UFV, Nayan Rodrigues e Ana Carolina pelo profissionalismo e carinho.

Ao amigo Júlio Nunes, pessoa com as mais distintas qualidades, por sempre abrir as portas para minhas pesquisas, estar disposto a me ouvir, pelos ensinamentos e, sobretudo, pela oportunidade de conviver com uma pessoa tão culta.

Ao Professor Raphael Bragança, por ter confiado em mim, e me apoiado diante de momentos difíceis, pessoa a qual tenho muita admiração e respeito.

Ao Professor Genelício Crusoé, pessoa a qual tenho muita gratidão e respeito.

Ao meu Professor e Orientador Leonardus Vergütz pelos ensinamentos, paciência em diversos momentos durante o mestrado e principalmente por ter sido a primeira pessoa a abrir as portas para mim.

Aos Professores, Ivo Ribeiro, Edson Mattiello, Victor Hugo, Júlio Neves e Emanuelle Mercês por todos os ensinamentos e influência em minha iniciação como pesquisador.

De maneira especial ao meu amigo irmão e coorientador Rafael da Silva Teixeira, por ser o maior responsável pelos meus avanços, por ser a minha grande influência como pesquisador, além de ser uma pessoa com destacada visão humana, estando à frente de sua época.

Ao Professor Paulo Roberto Fávero de Fravet, por todo companheirismo, ensinamentos e conselhos. Estendendo-se ao Centro Universitário do Planalto de Araxá.

À Universidade Federal de Viçosa – Campus Viçosa e em especial ao Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas por terem transformado a minha vida!

Agradeço a cidade de Viçosa e ao povo viçosense pelo acolhimento maravilhoso que me deram.

Agradeço a Capes por ter concedido a bolsa de pesquisa que foi fundamental para que tudo acontecesse.

À minha Pompéu-MG e ao povo pompeano... que tem muita influência em minha formação.

BIOGRAFIA

Ranyer Lucas Campos Afonso, filho de Lucilene Antônia Campos Evangelista Afonso e Clever Afonso de Jesus, nasceu em 04 de maio de 1989, em Pompéu, MG.

Em 1999, concluiu a primeira parte do ensino fundamental (1^a a 4^a série) na Escola Estadual Doutor Jacinto Campos, em Pompéu, MG.

Em 2003, concluiu o 1^o grau na Escola Estadual Ministro Francisco Campos, em Pompéu, MG.

Em 2006, concluiu o 2^o grau na Escola Estadual Ministro Francisco Campos, em Pompéu, MG.

Em 2009, diplomou-se em Técnico em Agropecuária pela CEDAF - Universidade Federal de Viçosa – Florestal, MG.

Em 2017, diplomou-se em Agronomia pelo Centro Universitário do Planalto de Araxá.

Em março de 2018, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, em nível de Mestrado, na área de concentração em Fertilidade do Solo e nutrição de Plantas – Fatores e processos em solos de ecossistemas florestais, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2020.

“Nossa cidade é maravilhosa. É pra frente, é colossal. É orgulho de tanta gente. Nossa Pompéu é muito mais do que legal. Só em Pompéu há tanta alegria. Aqui o sol brilha com mais resplendor. Não há lugar com tamanha beleza. Só em Pompéu é que existe tanto amor. É Pompéu, Pompéu. É Pompéu, Pompéu. Pedacinho do Céu” Hino da minha terra – Pompéu-MG

(Maria Mercês dos Santos)

Bata Quinha, bata Quinha, mas bata em um coração que te ama.

(Benevides de Campos Cordeiro “Tio Duga”)

“O maior e único problema do Brasil são as suas elites: apátridas, parasitárias, vivem de vender o patrimônio nacional e manter o povo escravizado, ignorante, feito gado.”

(Darcy Ribeiro)

“Fracassei em tudo que tentei na vida. Tentei alfabetizar as crianças brasileiras, não consegui. Tentei salvar os índios, não consegui. Tentei fazer uma universidade séria e fracassei. Tentei fazer o Brasil desenvolver-se autonomamente e fracassei. Mas os fracassos são minhas vitórias. Eu detestaria estar no lugar de quem me venceu”

(Darcy Ribeiro)

“O segredo da vida é o solo, porque do solo dependem as plantas, a água, o clima e a nossa vida. Tudo está interligado. Não existe ser humano sadio se o solo não for sadio”

(Ana Maria Primavesi)

É terra de meu país; desejo que seja posta no meu caixão, se eu morrer fora da minha pátria”

(Dom Pedro II)

RESUMO

AFONSO, Ranyer Lucas Campos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Bactérias diazotróficas no crescimento inicial de eucalipto**. Orientador: Leonardus Vergütz. Coorientadores: Ivo Ribeiro da Silva, Marliane de Cássia Soares da Silva e Rafael da Silva Teixeira.

Diversos estudos demonstram a existência de bactérias e actinobactérias atuando endofiticamente na rizosfera e/ou próximo da rizosfera do eucalipto. Porém, ainda não é comprovado se o potencial de fixação biológica de nitrogênio (FBN) desses microrganismos é eficiente em disponibilizar N e influenciar no desenvolvimento do eucalipto. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de bactérias e actinobactérias diazotróficas isoladas a partir de plantios de eucalipto no fornecimento de N para a planta. Para isso, instalamos um experimento em casa de vegetação com 13 inoculantes (Bactérias (Bac.) 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48, 74 e Actinobactérias (Act.) 09, 23 e 57), além de um controle sem inoculação e sem adubação nitrogenada (Sem inoc – N) e outro sem inoculação e com adubação nitrogenada (Sem inoc + N). Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Na planta foram avaliadas a massa de matéria seca da planta (MMSP), N na planta (N planta), Delta N (Conteúdo de N na planta com inoculação - N (N planta_{CI}) – Conteúdo de N na planta sem inoculação - N (N planta_{SI})), superfície foliar (SF), taxa crescimento do diâmetro do caule (TCDC) e a taxa de crescimento da altura da planta (TCA). No solo foram avaliados o C da biomassa microbiana (C-BM), N da biomassa microbiana (N-BM), C/N da biomassa microbiana (C/N-BM), C orgânico total (COT), N total (NT), C lábil (CL) e N lábil (NL). Após 120 dias de cultivo e 90 dias após a primeira inoculação dos solos, o solo no qual foi inoculado a Bac. 23 proporcionou maior taxa de crescimento em diâmetro do caule do eucalipto (TCDC) em relação às plantas cultivadas em solo sem adubação nitrogenada e sem inoculação. Porém, a superfície foliar (SF), o conteúdo de nitrogênio na planta e a massa de matéria seca de plantas (MMSP) não foram influenciados pelas inoculações. Os dados encontrados para a SF, MMSP e para o conteúdo de N na planta são suficientes para comprovar a baixa eficiência das bactérias e actinobactérias no desenvolvimento do eucalipto nas condições do nosso estudo. De maneira geral, podemos concluir que nas condições do nosso estudo as bactérias e actinobactérias avaliadas não foram eficientes em relação à FBN e pouco interferiram no desenvolvimento do eucalipto.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio. Bactérias. Actinobactérias.

ABSTRACT

AFONSO, Ranyer Lucas Campos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2020. **Diazotrophic bacteria in the initial growth of eucalyptus**. Adviser: Leonardus Vergütz. Co-advisers: Ivo Ribeiro da Silva, Marliane de Cássia Soares da Silva and Rafael da Silva Teixeira.

Several studies demonstrate the existence of bacteria and actinobacteria acting endophytically in the rhizosphere and/or near to the rhizosphere of eucalyptus. However, it is not yet proven whether the potential for biological nitrogen fixation (BNF) of these microorganisms is efficient in providing N and influencing the development of eucalyptus. Thus, the objective of this study was to evaluate the efficiency of diazotrophic bacteria and actinobacteria isolated from eucalyptus plantations in supplying N to the plant. For this, we installed an experiment in a greenhouse with 13 inoculants (Bacteria (Bac.) 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48, 74 and Actinobacteria (Act.) 09, 23 and 57), in addition to a control without inoculation and without nitrogen fertilization (Without inoc. – N) and another without inoculation and with nitrogen fertilization (With inoc. + N). A randomized block design with four replications was used. In the plant, the plant dry matter mass (MMSP), N in the plant (N plant), Delta N (N content in the inoculated plant - N (N plantaCI) - N content in the plant without inoculation - N (NplantaSI)), leaf surface (SF), stem diameter growth rate (TCDC) and plant height growth rate (TCA). In the soil, microbial biomass C (C-BM), microbial biomass N (N-BM), microbial biomass C/N (C/N-BM), total organic C (TOC), total N (NT), C labile (CL) and N labile (NL). After 120 days of cultivation and 90 days after the first inoculation of the soils, the soil in which Bac. 23 provided a higher growth rate in eucalyptus stem diameter (TCDC) in relation to plants grown in soil without nitrogen fertilization and without inoculation. However, leaf surface (SF), plant nitrogen content and plant dry matter mass (MMSP) were not influenced by inoculations. The data found for SF, MMSP and for the N content in the plant are sufficient to prove the low efficiency of bacteria and actinobacteria in the development of eucalyptus under the conditions of our study. In general, we can conclude that under the conditions of our study, the bacteria and actinobacteria evaluated were not efficient in relation to BNF and had little interference in the development of eucalyptus.

Keywords: Biological nitrogen fixation. Bactéria. Actinobactéria.

SUMÁRIO

ARTIGO – BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NO CRESCIMENTO INICIAL DE EUCALIPTO	10
RESUMO	10
1. INTRODUÇÃO	12
2. MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Instalação do experimento	13
2.2 Análises da planta	16
2.3 Análises químicas do solo	16
2.4 Análises microbiológicas do solo	17
2.5 Análise estatística	17
3. RESULTADOS	17
4. DISCUSSÃO	25
5. CONCLUSÕES	31
6. REFERÊNCIAS	31
7. MATERIAL SUPLEMENTAR	36

ARTIGO

BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NO CRESCIMENTO INICIAL DE EUCALIPTO

Ranyer Lucas Campos Afonso¹; Rafael da Silva Teixeira¹; Marliane de Cássia Soares da Silva²; Ivo Ribeiro da Silva¹; Leonardus Vergütz¹

¹Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

²Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

RESUMO

Diversos estudos demonstram a existência de bactérias e actinobactérias atuando endofiticamente na rizosfera e/ou próximo da rizosfera do eucalipto. Porém, ainda não é comprovado se o potencial de fixação biológica de nitrogênio (FBN) desses microrganismos é eficiente em disponibilizar N e influenciar no desenvolvimento do eucalipto. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de bactérias e actinobactérias diazotróficas isoladas a partir de plantios de eucalipto no fornecimento de N para a planta. Para isso, instalamos um experimento em casa de vegetação com 13 inoculantes (Bactérias (Bac.) 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48, 74 e Actinobactérias (Act.) 09, 23 e 57), além de um controle sem inoculação e sem adubação nitrogenada (Sem inoc – N) e outro sem inoculação e com adubação nitrogenada (Sem inoc + N). Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Na planta foram avaliadas a massa de matéria seca da planta (MMSP), N na planta (N planta), Delta N (Conteúdo de N na planta com inoculação - N (N planta_{CI}) – Conteúdo de N na planta sem inoculação - N (N planta_{SI})), superfície foliar (SF), taxa crescimento do diâmetro do caule (TCDC) e a taxa de crescimento da altura da planta (TCA). No solo foram avaliados o C da biomassa microbiana (C-BM), N da biomassa microbiana (N-BM), C/N da biomassa microbiana (C/N-BM), C orgânico total (COT), N total (NT), C lábil (CL) e N lábil (NL). Após 120 dias de cultivo e 90 dias após a primeira inoculação dos solos, o solo no qual foi inoculado a Bac. 23 proporcionou maior taxa de crescimento em diâmetro do caule do eucalipto (TCDC) em relação às plantas cultivadas em solo sem adubação nitrogenada e sem inoculação. Porém, a superfície foliar (SF), o conteúdo de nitrogênio na planta e a massa de matéria seca de plantas (MMSP) não foram influenciados pelas inoculações. Os dados encontrados para a SF, MMSP e para o conteúdo de N na planta são suficientes para comprovar a baixa eficiência das bactérias

e actinobactérias no desenvolvimento do eucalipto nas condições do nosso estudo. De maneira geral, podemos concluir que nas condições do nosso estudo as bactérias e actinobactérias avaliadas não foram eficientes em relação à FBN e pouco interferiram no desenvolvimento do eucalipto.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio. Bactérias. Actinobactérias.

1. INTRODUÇÃO

O eucalipto é uma das espécies florestais de maior relevância econômica do mundo (FAO, 2014). As florestas de eucalipto representam 77,38 % de uma área total de 9.002.594 hectares de florestas plantadas no Brasil, alcançando produtividades médias de 36 m³/ha/ano (IBÁ, 2020). A demanda da indústria por matéria prima para produção de papel, celulose, carvão vegetal e mais recentemente movelaria fina e bioprodutos tem alavancado esse crescimento (Gatto et al, 2014; Hodecker et al, 2018).

Os fatores nutricionais e hídricos têm sido apontados como os principais responsáveis para a obtenção de altas produtividades (Barros & Comerford (2002); Da Silva et al, 2014; Hodecker et al, 2014), uma vez que o eucalipto apresenta elevada exigência nutricional (Laclau et al, 2010), em razão da alta produtividade e rápido ganho de biomassa. Neste contexto, o manejo adequado do N nos plantios de eucalipto torna-se extremamente importante, uma vez que ele está intrinsecamente associado ao crescimento de plantas (Gupta et al, 2019). Frequentemente, níveis de produtividades consideráveis são alcançados pelas plantações de eucalipto mesmo em manejos com aplicação de doses de N inferiores àquelas demandadas pelas plantas, sinalizando haver o acesso de outros compartimentos de N no solo.

No solo, a maior parte do N está presente em formas orgânicas (Schulten & Schnitzer, 1997), o qual poderá ser acessado em maiores quantidade pela planta por mecanismos de interação planta-microrganismos-solo (Kuzyakov,2010) que influenciam na taxa de mineralização da matéria orgânica do solo (MOS). No entanto, tal compartimento poderia ser exaurido ao longo do tempo diminuindo a sustentabilidade do sistema quando não há reposição de N via fertilizações (mineral ou orgânica). Por outro lado, estudos tem demonstrado a presença de microrganismos com potencial de fixação biológica de N (FBN) agindo endofiticamente (Miguel et al, 2016) ou associados às raízes do eucalipto (Da Silva et al, 2014), podendo estar ocorrendo o fornecimento de N para as plantas via FBN.

A atmosfera é o maior reservatório de N da terra, onde 78 % do ar atmosférico é composto pelo gás N₂ (Zerlde & Mikhail, 2017). Porém, as plantas não conseguem assimilar o N₂ atmosférico devido à ligação tripla, de alta energia, entre os átomos de N, dificultando a sua transformação em formas assimiláveis pelas plantas. Essa ligação pode ser quebrada durante a fixação biológica de N (FBN), realizada por bactérias diazotróficas simbióticas ou não simbióticas (Smercina et al, 2019). A enzima nitrogenase, presente nessas bactérias, é responsável pela conversão do N₂ a amônia (NH₃) (Kaschuk & Hungria, 2017; Zerlde & Mikhail, 2017; Gupta et al, 2019). O input de N proporcionado pela FBN, além de incorporar

ao solo uma forma de N assimilável pelas plantas, pode restituir parte do N perdido durante o processo de desnitrificação (Dixon & Kahn, 2004), além de perdas em decorrência de lixiviação, volatilização, escoamento superficial e de processos erosivos.

As bactérias diazotróficas são divididas em quatro grupos: vida livre, associativas, endofíticas e simbióticas (Kaschuk & Hungria, 2017). Algumas são consideradas bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) por fixarem nitrogênio, produzirem hormônios reguladores de crescimento ou por solubilizarem o P fortemente adsorvido nos minerais de argila (Longatti et al, 2013). Existe também a possibilidade de um mesmo diazotrófico atuar em diversos mecanismos de crescimento de plantas (Ávila, 2019).

As actinobactérias pertencem a um importante filo de bactérias gram-positivas. Estudos precursores mostraram que existe a possibilidade de plantas de eucalipto serem favorecidas pela ação de algumas actinobactérias, uma vez que elas demonstram potencial de FBN (Miguel et al, 2016; Fonseca et al, 2018). Todavia, apesar desses microrganismos apresentarem tal potencial, a sua influência sobre plantas de eucalipto, por meio da FBN, ainda é desconhecida.

A possibilidade de FBN em florestas de eucalipto pode representar um avanço na compreensão do balanço do N em sítios florestais e uma tentativa pertinente pela busca de produção de florestas sustentáveis. Porém, estudos que quantifiquem a efetiva contribuição das bactérias não simbióticas no fornecimento de N via FBN para as plantas de eucalipto são escassos.

Desta forma, nossa hipótese é de que a inoculação de microrganismos diazotróficos na cultura do eucalipto aumenta o fornecimento de N para as plantas, melhorando o seu crescimento. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a efetiva contribuição de bactérias e actinobactérias diazotróficas, isoladas da rizosfera de florestas de eucalipto, no fornecimento de N ao eucalipto via FBN e desenvolvimento das plantas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Instalação do experimento

O estudo foi realizado em casa de vegetação, utilizando-se mudas de eucalipto (Clone I-144) plantadas em solo classificado como Latossolo Amarelo (Tabela 1). O solo foi coletado em uma área de cerrado com cobertura típica do bioma. Após o plantio foram aplicados 13 inoculantes microbianos (Tabela 2), compostos de diferentes isolados de bactérias e actinobactérias fixadoras de N, oriundo de solos cultivados com Eucalipto.

Tabela 1. Propriedades químicas e físicas do Latossolo Amarelo utilizado no experimento
(Caracterização anterior à correção e fertilização do solo)

<i>Propriedades químicas</i>	
pH _{H2O}	4,52
H + Al (cmol _c dm ⁻³)	3,40
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,49
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,04
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,01
K ⁺ (mg dm ⁻³)	7,00
P (mg dm ⁻³)	0,10
S (mg dm ⁻³)	14,90
Fe (mg dm ⁻³)	20,90
Zn (mg dm ⁻³)	0,70
CTC (T) (cmol _c dm ⁻³)	3,47
COT dag kg ⁻¹	0,59
NT dag kg ⁻¹	0,035
<i>Propriedades físicas</i>	
Areia grossa (%)	24,8
Areia fina (%)	46,6
Silte (%)	7,3
Argila (%)	21,3

pH_{H2O} (L:S 2,5 L kg⁻¹; Embrapa, 2011); H + Al - Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L - pH 7,0; Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ trocáveis em extrato de 1 mol L⁻¹ KCl; P, K e Fe disponíveis extraídos por Mehlich-1; S: extraído por fosfato monocálcico em ácido acético; CTC potencial (T): Capacidade de troca catiônica, mensurada com ácido acético 0,5 mol L⁻¹ em acetado de cálcio a pH 7,0; Análise granulométrica pelo método da pipeta (Ruiz et al., 2005).

Fonte: Autor

Os solos foram secos ao ar e peneirados em peneira de 2 mm para a obtenção de terra fina seca ao ar (TFSA). Na sequência, 7 dm³ de solo foram armazenados em sacos plásticos, representando uma unidade experimental. Posteriormente, os solos receberam a aplicação de calcário (CaCO₃ e MgCO₃ p.a. (3:1 razão molar)), os quais foram incubados por 30 dias na umidade de 80 % da capacidade de campo.

Após a incubação do solo, uma solução nutritiva (Novais et al., 1991) foi aplicada com ausência de N para os respectivos tratamentos e realizado a homogeneização das amostras com acomodação em vasos de plástico de 10 dm³.

Os 15 tratamentos foram arranjos em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Cada unidade experimental recebeu o plantio de uma muda de eucalipto. Para que houvesse uma concentração mínima de N no solo para as plantas desenvolverem, foram

aplicados 5 mg dm^{-3} de N via solução em todos os tratamentos aos 60 dias após o plantio. Portanto considerando que os vasos utilizados (unidades experimentais) continham 7 dm^3 de solo, foram aplicados 35 mg/vaso de N.

Os inoculantes foram aplicados aos 30 e 60 dias após o plantio das mudas de eucalipto, visando aumentar as chances de colonização do solo pelos microrganismos (Material suplementar – Figura 1). Os inoculantes foram obtidos por meio da incubação de diferentes bactérias (isolados) (Tabela 2) em meio BDA (batata, dextrose, agar), por 24 horas, apresentando contagem entre $9,1 \times 10^5$ a $3,1 \times 10^7$ UFC mL^{-1} .

Tabela 2. Espécie dos isolados utilizados para obtenção dos inoculantes e microrganismos aos quais proporcionalmente se assemelham

Isolados de Bactérias*	Espécie
43	<i>Pandoraea sputorum</i>
27	<i>Pandoraea oxalativorans</i>
64	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
77	<i>Paraburkholderia sp.</i>
76	<i>Burkholderia sp.</i>
50	<i>Pandoraea oxalativorans</i>
15	<i>Pandoraea oxalativorans</i>
69	<i>Burkholderia sp.</i>
48	<i>Pseudomonas sp.</i>
74	<i>Pandoraea oxalativorans</i>
Isolados de Actinobactérias*	Espécie
09	<i>Streptomyces panaciradicis</i>
23	<i>Streptomyces gramineus</i>
57	<i>Streptomyces malaytiense</i>

Fonte: Autor

As actinobactérias (Act.) utilizadas para produção dos inoculantes foram cultivadas em placas de Petri com meio BDA (batata, dextrose, agar) por uma semana e em seguida foi preparada uma suspensão com hifas e esporos presentes na superfície do meio.

Em ambas as inoculações, independente do inoculante, foram aplicados 2 mL por unidade experimental (planta) e ambas as inoculações. O tratamento sem inoculante (Sem inoc. – N) e sem inoc. + N receberam apenas a aplicação de 2 mL do meio BDA, aos 30 e 60 dias após o plantio. O experimento foi conduzido durante 125 dias, após o qual foi desmontado e realizadas as análises de planta e solo.

2.2. Análises da planta

Ao aplicar os tratamentos as mudas de eucalipto foram mensuradas quanto ao diâmetro do caule (DC) por meio de um paquímetro e a altura (A) por meio de uma fita métrica. Por ocasião do término do experimento as mudas foram novamente mensuradas quanto ao DC e A de forma que pudéssemos obter a taxa de crescimento em diâmetro do caule (TCDC; mm/dia) e a taxa de crescimento em altura diária do eucalipto (TCA; mm/dia) segundo as Equações 1 e 2.

$$TCDC (cm^{-1}) = (DCf - DCi) / NDAPI \quad \text{Equação 1.}$$

$$TCA (cm^{-1}) = (Af - Ai) / NDAPI \quad \text{Equação 2.}$$

Onde o DCf (cm) é o diâmetro do coleto mensurado na data da colheita (125 dias após o plantio e 95 dias após a primeira aplicação dos inoculantes); DCi (cm) é o diâmetro do coleto da planta no momento da primeira aplicação dos inoculantes (30 dias após o plantio); e NDAPI (número de dias após a primeira inoculação) Af (cm) é a altura da planta mensurada na data da colheita (125 dias após o plantio e 95 dias após a primeira aplicação dos inoculantes); Ai (cm) é a altura da planta no momento da primeira aplicação dos inoculantes (30 dias após o plantio).

Aos 125 dias após o plantio as plantas foram colhidas e seus componentes separados em folhas, galhos, caule e raízes. As folhas foram separadas e determinadas a superfície foliar (SF; m²) por meio do equipamento LI-3100 AREA METER. Então, cada componente da planta foi seco em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C por 72 horas até obtenção de peso constante e determinação da massa de matéria seca (MMS) de cada componente. Na sequência as amostras vegetais foram moídas em moinho tipo Willey e submetidas à digestão sulfúrica com posterior destilação (destilador Kjeldahl) e titulação com ácido-base para a determinação dos teores de N nos tecidos.

2.3. Análises químicas do solo

Ao término do experimento, foi utilizada uma sonda de PVC de 75 mm por meio da qual foram cuidadosamente coletadas subamostras da camada de 0-10 cm de profundidade de cada unidade experimental (Material suplementar - Figura 2). Posteriormente foram secas ao ar para posteriores análises. Assim, foram determinados nas amostras de solo os teores de C orgânico total do solo (COT) pelo método de oxidação via úmida (Yeomans & Bremner, 1988), teores de C lábil (CL) por oxidação com KMnO₄ (Shang & Tiessen, 1997), Nitrogênio total (NT) pelo método adaptado de Bremner & Mulvaney (1982) e Tedesco et al. (1995) e o Nitrogênio lábil (NL) utilizando o extrato obtido na análise de CL e precedendo a destilação e titulação segundo o método de Bremner & Mulvaney (1982) e Tedesco et al. (1995).

2.4. Análises microbiológicas do solo

Ao término do experimento, durante a retirada das subamostras para realização das análises químicas do solo, foram retiradas quantidades suficientes para a realização das análises microbiológicas (Material suplementar - Figura 2). Porém, nesse caso tomou-se o cuidado de preservar a umidade da amostra e, após a passagem em peneira de 2 mm, procedeu-se as análises de C e N associados a biomassa microbiana. A determinação do C da biomassa microbiana (C-BM) foi realizada segundo o método proposto por Islam & Weil (1998) e Tedesco (1995). Por sua vez, as frações de N da biomassa microbiana (N-BM) foram determinadas utilizando o método proposto por Islam & Weil (1998) com posterior destilação e titulação segundo o método de Bremner & Mulvaney (1982) e Tedesco et al. (1995).

2.5. Análise estatística

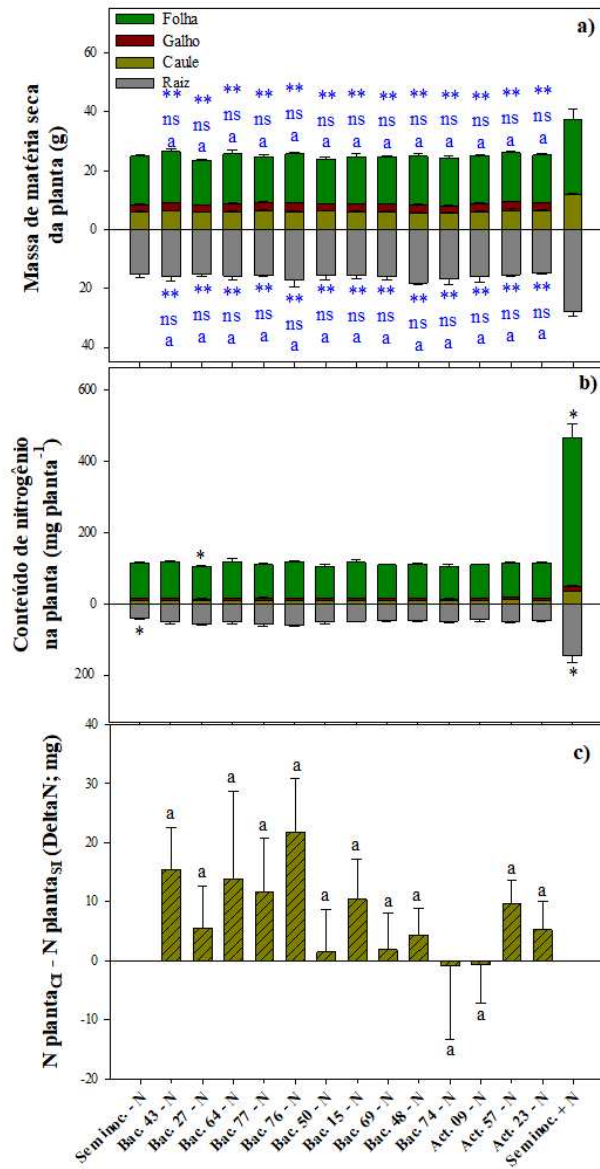
Os dados de CDC, CA, SF, MMS e conteúdo de N na folha, galho, caule e raiz, COT, NT, CL, NL, C-BM, N-BM e C/N-BM foram submetidos a análises das pressuposições da estatística paramétrica por meio do teste de Shapiro-Wilk para a normalidade e teste de Levene para a homocedasticidade dos dados. Para o NT e N-BM foram necessários a transformação BOX-COX para que as premissas fossem atendidas, entretanto as variáveis NL e NBM não se adequaram a estatística paramétrica. Assim, o NL e NBM foram analisados por teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste de z-valores para comparações múltiplas. Posteriormente, para comparações apenas entre os tratamentos que receberam inoculação, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e seguida a comparação das médias pelo teste de Scott-Knott a 10 % de probabilidade. Os tratamentos que receberam inoculação foram comparados ao controle negativo e positivo, separadamente, por meio do Teste de Dunnett aos níveis de 1, 5 e 10 % de significância.

3. RESULTADOS

A massa de matéria seca da planta (MMSP) não apresentou diferenças significativas quando comparamos apenas as plantas cultivadas em solos inoculados com as bac. diazotróficas e sem aplicação de N (Com inoc. – N). Também não houve diferença de MMSP quando comparamos plantas cultivadas nos solos (Com inoc. – N) em relação àquelas cultivadas em solos sem inóculo e sem aplicação de N (Sem inoc. – N). Em contrapartida a MMSPA foi superior em plantas cultivadas em solos sem inóculo e com aplicação de N (Sem inoc. + N) em relação àquelas cultivadas em solos (Com inoc. – N) (Figura 1a). Esses mesmos resultados

foram encontrados quando avaliamos o conteúdo de N da planta (N planta) (Figura 1b). Ao avaliarmos o Delta N não foi possível detectar diferenças estatísticas (Figura 1C).

Figura 1. Massa de matéria seca (g; a) e conteúdo de nitrogênio (mg; b) do Caule, Galho, Folha e Raiz do eucalipto e DeltaN (Conteúdo de N na planta com inoculação (N planta_{CI}) – Conteúdo de N na planta sem inoculação (N planta_{SI})) cultivado em solo sem inóculo e sem aplicação de N (Sem inoc. -N), sem inóculo e com aplicação de N (Sem inoc. +N) e com inoculação de diferentes Bactérias (Bac. 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48 e 74) e Actinobactérias (Act. 09, 57 e 23) fixadoras de nitrogênio sem a aplicação de N (-N).

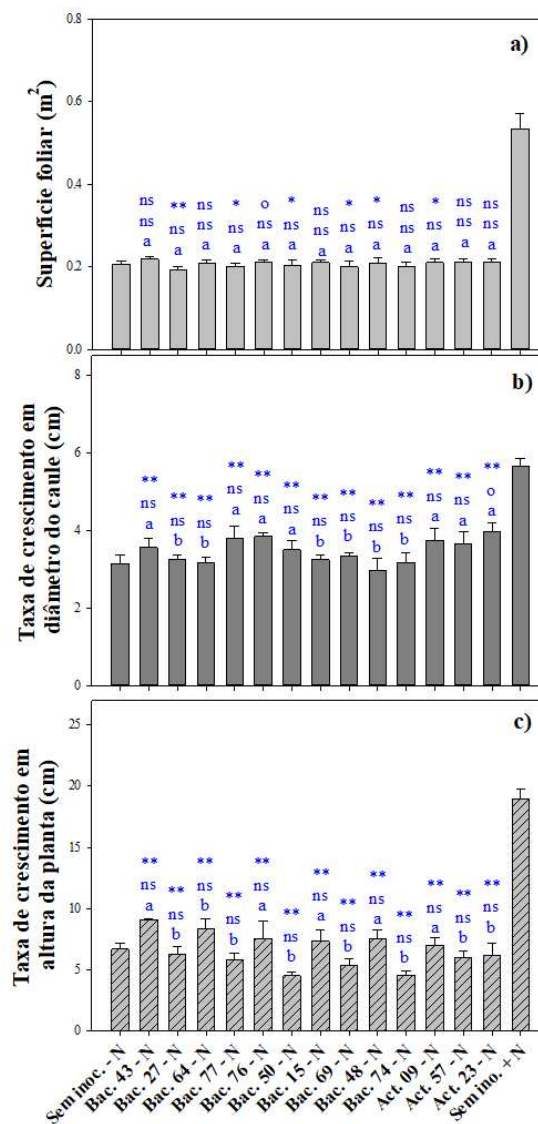


Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,10$). Sinais ** e ^{ns} acima das letras (primeiro sinal refere-se a comparações sem inoc. - N e o segundo sinal refere-se a comparações com inoc. +N) representam significância de 1 % e não significativo pelo Teste de Dunnett. Para o Conteúdo de nitrogênio na planta, a presença de * nas barras verticais denotam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis seguido por comparação múltipla de z-valores ($p < 0,05$), enquanto os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas. Barras sobre as médias denotam erro padrão da média ($n=4$).

Fonte: Autor

Os parâmetros de desenvolvimento do eucalipto para superfície foliar (SF), taxa de crescimento em diâmetro do caule (TCDC) e a taxa crescimento em altura da planta (TCA) apresentaram diferentes comportamentos entre solos com inoc. – N, sem inoc. – N e sem inoc. + N (Figuras 2a, 2b e 2c).

Figura 2. Superfície foliar (m^2 ; a), Taxa de crescimento em diâmetro do caule ($mm\ dia^{-1}$; b) e Taxa de crescimento em altura ($mm\ dia^{-1}$; c) do eucalipto cultivado em solo sem inóculo e sem aplicação de N (Sem inoc. –N), sem inóculo e com aplicação de N (Sem inoc. + N) e com inoculação de diferentes Bactérias (Bac. 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48 e 74) e Actinobactérias (Act. 09, 57 e 23) fixadoras de nitrogênio sem a aplicação de N (-N).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,10$). Sinais **, *, ° e ns acima das letras (primeiro sinal refere-se a comparações com Sem inoc. –N e o segundo sinal refere-se a comparações com Sem inoc. +N) representam significância de 1 %, 5 %, 10 % e não significativo pelo Teste de Dunnett. Barras sobre as médias denotam erro padrão da média ($n=4$).

Fonte: Autor

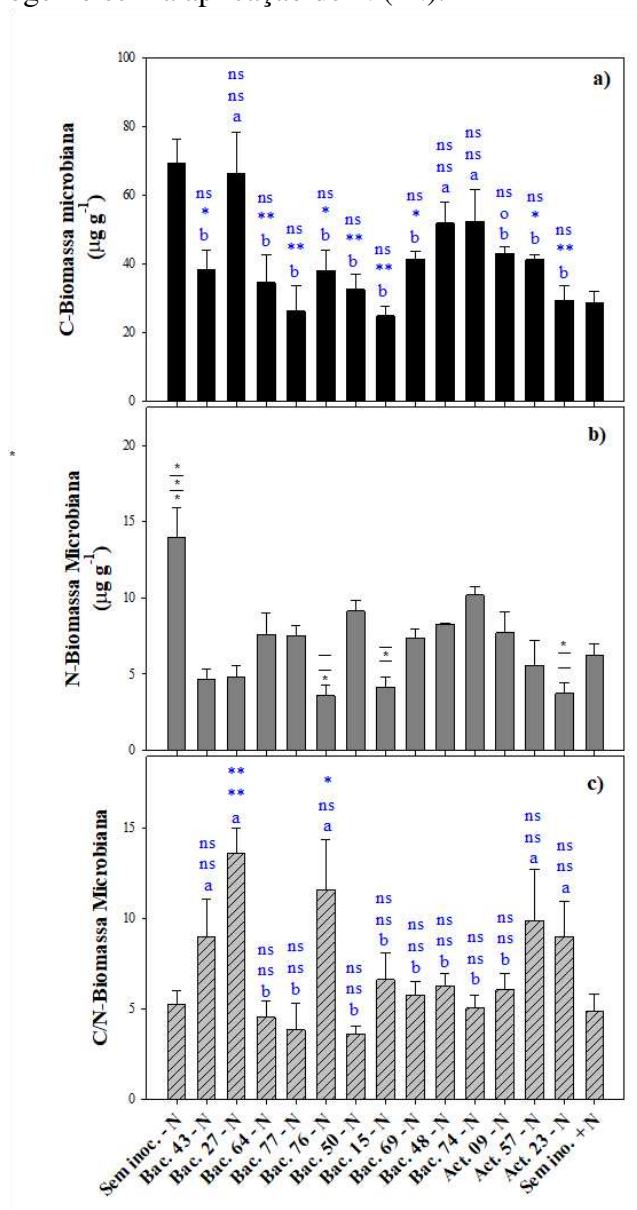
A SF não apresentou diferença significativa quando comparamos apenas plantas cultivadas em solos (Com inoc. – N) e nem quando plantas cultivadas nesses solos foram comparadas àquelas cultivadas em solos (Sem inoc. – N). Quando comparamos a SF das plantas cultivadas nos solos (Sem inoc. + N) com a SF de plantas cultivadas em solos inoculados com as Bac. 43, 64, 15, 74, 57 e 23 não observamos diferenças estatísticas significativas. Porém, plantas cultivadas em solos (Sem inoc + N) apresentaram maior SF média em relação às plantas cultivadas em solos inoculados com as Bac. 27, 77, 50, 69, 48 e 09 (Figura 2a). Ao contrário do que observamos para a MMSP, N-Planta e SF, observamos diferenças estatísticas para a TCDC quando comparamos entre si apenas plantas cultivadas em solos (Com inoc. – N). Nesse sentido, observamos que plantas cultivadas em solos inoculados com as Bac. 43, 77, 76, 50, 09, 57 e 23 apresentaram maior TCDC em relação às demais plantas cultivadas em solos com inoculação de bactérias diazotróficas. Porém, quando comparamos plantas cultivadas em solos (Com inoc. – N) com aquelas cultivadas em solo (Sem inoc. – N) apenas aquelas cultivadas nos solos inoculados com a Bac. 23 apresentou TCDC média maior que plantas cultivadas em solos (Sem inoc. – N). Já o solo sem inóculo e com aplicação de N, apresentou maior TCDC em comparação aos solos com inoc. – N (Figura 2b).

A taxa de crescimento em altura (TCA) foi influenciada significativamente quando plantas cultivadas em solos (Com inoc. - N) foram comparadas entre si. Onde as Bac. 43, 76, 50, 15, 48 e 09 apresentaram maior TCA média em relação às plantas cultivadas nos demais solos (Com inoc -N). Porém, não foram observadas diferenças significativas quando comparamos a TCA de plantas cultivadas em solos (Com inoc. – N) e aquelas cultivadas em solos (Sem inoc. -N). Entretanto, as plantas cultivadas em solos (Com inoc. – N) apresentaram menor TCA em relação àquelas cultivadas em solos (Sem inoc. + N) (Figura 2C).

Dentre os parâmetros microbiológicos estudados, foi possível observar maiores teores de carbono da biomassa microbiana (CBM) em solos receberam inoculação com as Bac. 27, 48 e 74 quando comparados aos outros solos (Com inoc. – N). Os solos (Com inoc. – N) que foram inoculados com as Bac. 43, 76, 69, 57, 64, 77, 50, 15, 23 e 09 apresentaram menor teor de CBM médio em relação aos solos (Sem inoc. – N). Todavia, não observamos maiores teores CBM do solo (Sem inoc. – N) em relação aos solos (Com inoc. – N) Bac. 27, 48 e 74. Também não observamos diferenças significativas quando comparamos o teor de CBM médio dos solos (Com inoc. – N) aos dos solos (Sem inoc. + N). Por outro lado, observamos um maior teor de NBM médio do solo (Sem inoc. – N) em relação aos solos inoculados com as Bac. 76 e 15 e Act. 23 em 287, 238 e 274 %, respectivamente (Figura 3b). Nenhuma diferença significativa

foi observada quando comparamos o teor de NBM apenas entre solos (Com inoc. – N) ou quando comparamos com o teor de NBM do solo (Sem inoc. + N) (Figura 3b).

Figura 3. C-Biomassa microbiana ($\mu\text{g g}^{-1}$; a), N-Biomassa microbiana ($\mu\text{g g}^{-1}$; b) e C/N-Biomassa microbiana (c) em solo cultivado com eucalipto sem inóculo e sem aplicação de N (Sem inoc. –N), sem inóculo e com aplicação de N (Sem inoc. +N) e com inoculação de diferentes Bactérias (Bac. 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48 e 74) e Actinobactérias (Act. 09, 57 e 23) fixadoras de nitrogênio sem a aplicação de N (-N).



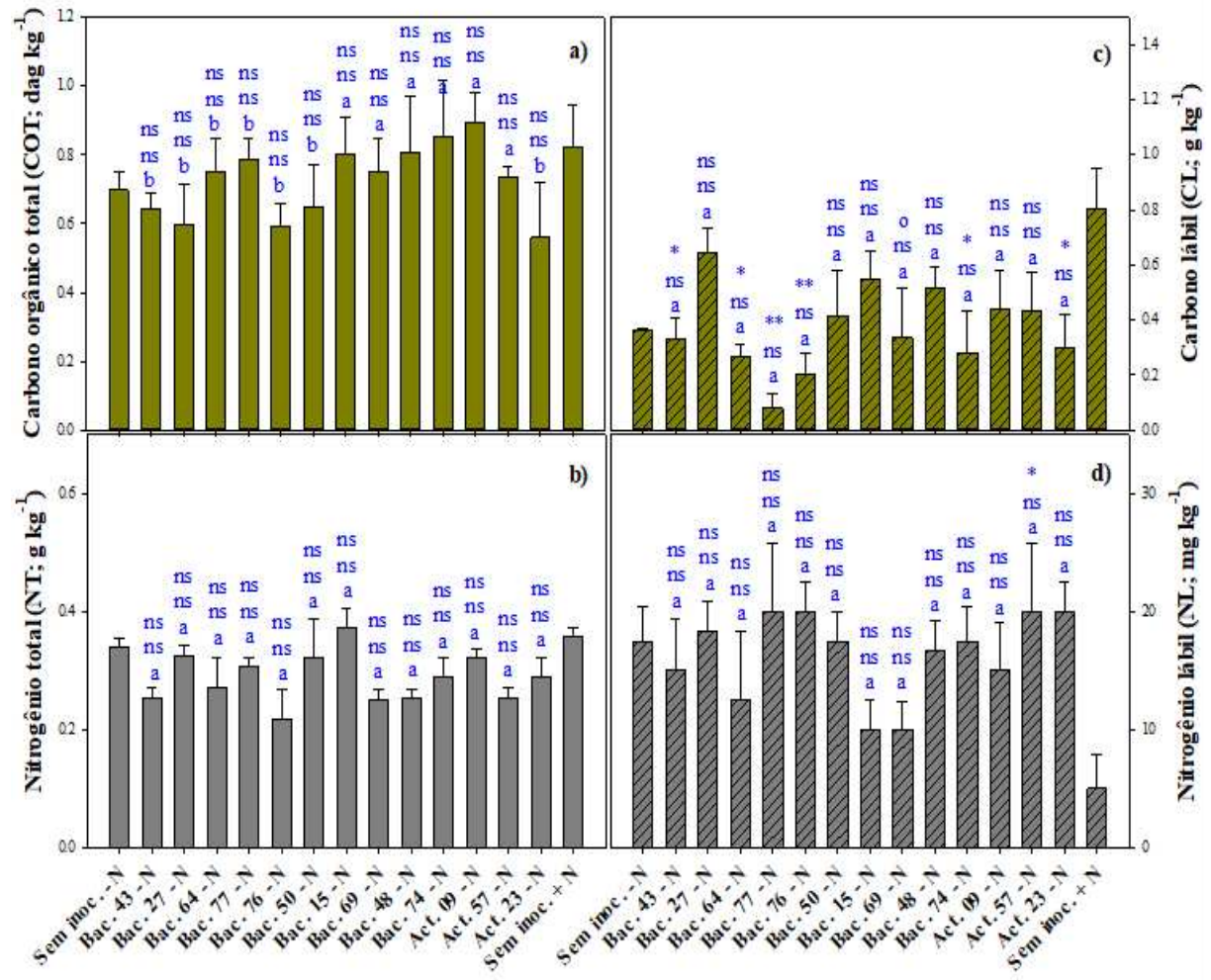
Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,10$). Sinais **, *, ° e ^{ns} acima das letras (primeiro sinal refere-se a comparações com Sem inoc. –N e o segundo sinal refere-se a comparações com Sem inoc. + N) representam significância de 1 %, 5 %, 10 % e não significativo pelo Teste de Dunnett. Diferentes números de * entre as barras horizontais denotam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis seguido por comparação múltipla de z-valores ($p < 0,05$). Barras sobre as médias denotam erro padrão da média ($n=4$).

Fonte: Autor

A relação carbono e nitrogênio da biomassa microbiana do solo (C/N-BM) foi uma das variáveis microbiológicas do solo que apresentaram diferenças significativas quando avaliamos entre si, solos (Com inoc. - N), onde observamos uma maior C/N-BM em solos inoculados com Bac. 43, 27, 76, 57 e 23 em relação aos demais solos (Com inoc. - N). Porém, quando avaliamos a C/N-BM de solos (Com inoc. - N) em relação à observada no solo (Sem inoc. - N) somente o solo inoculado com a Bac. 27 apresentou maior C/N-BM. Dentre os solos (Com inoc. - N) os solos Bac. 27 e 76 apresentaram uma maior relação C/N-BM média em relação aos solos (Sem inoc. + N) (Figura 3c).

Os solos (Com inoc. - N) 15, 69, 48, 74, 09 e 57 apresentaram maior teor de carbono orgânico total (COT) em relação aos demais solos (Com inoc. - N) (Figura 4a). Todavia, não foram observadas diferenças estatísticas quando comparamos o COT dos solos (Com inoc. - N) ao dos solos (Sem inoc. - N) ou (Sem inoc. + N). Nenhuma diferença significativa foi observada quando comparamos o nitrogênio total (NT) entre solos (Com inoc. - N) ou mesmo quando o NT desses solos foram comparados com o NT de solos (Sem inoc. - N) ou (Sem inoc. + N) (Figura 4b). Também não verificamos diferenças significativas do teor de carbono lábil (CL) quando comparamos apenas solos (Com inoc. - N) ou quando comparamos o teor de CL desses solos aos dos solos (Sem inoc. - N). Porém, observamos menores teores de CL nos solos inoculados com as Bac. 43, 64, 77, 76, 69, 74 e 23 em relação ao CL dos solos (Sem inoc. - N) (Figura 4c).

Figura 4. Carbono orgânico total – COT (dag kg⁻¹; a), Nitrogênio total – NT (g kg⁻¹; b), Carbono lábil – CL (g kg⁻¹; c) e Nitrogênio lábil – NL (mg kg⁻¹; d) em solo cultivado com eucalipto sem inóculo e sem aplicação de N (Sem inoc. -N), sem inóculo e com aplicação de N (Sem inoc. +N) e com inoculação de diferentes Bactérias (Bac. 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48 e 74) e Actinobactérias (Act. 09, 57 e 23) fixadoras de nitrogênio sem a aplicação de N (-N).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,10$). Sinais **, *, ° e ns acima das letras (primeiro sinal refere-se a comparações com Sem inoc. -N e o segundo sinal refere-se a comparações com Sem inoc. +N) representam significância de 1 %, 5 %, 10 % e não significativo pelo Teste de Dunnett. Barras sobre as médias denotam erro padrão da média ($n=4$).

Fonte: Autor

Não foram observadas diferenças estatísticas quando comparamos o teor nitrogênio lábil (NL), apenas entre tratamentos (Com inoc. - N). Da mesma forma, nenhum resultado significativo foi encontrado quando comparamos os teores de NL dos solos (Com inoc. - N) ao dos solos (Sem inoc. - N). Porém, quando comparamos os solos (Com inoc. - N) com os solos

(Sem inoc. + N) observamos que apenas o solo inoculado com a Bac. 57 apresentou menor média de teor de NL.

4. DISCUSSÃO

A inoculação de plantas de eucalipto com bactérias (Bac.) e actinobactérias (Act.) que têm potencial de FBN, objetiva o maior desenvolvimento de plantas proporcionado, principalmente, pela maior disponibilidade de N. Plantas que possuem maior SF têm maior capacidade fotossintética, por serem mais eficientes na captação de luz solar (González-Díaz et al, 2019), a qual esta associada a função primordial do N na expansão foliar. Isso corrobora com os resultados encontrados em nosso estudo, onde a maior SF foi encontrada em plantas cultivadas em solos (Sem inoc. + N) (Figura 2a) e que apresentaram um maior N-Planta (Figura 1b). Ao contrário do nosso estudo Dos Santos et al. (2017) observaram que a inoculação com as bactérias diazotróficas *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e *Paraburkholderia tropica* proporcionou o aumento da SF da cana-de-açúcar, comparativamente ao tratamento sem inoculação. González-Díaz et al. (2019) avaliando o efeito de biofertilizantes inoculados com bactérias diazotróficas sobre o desenvolvimento de mudas de eucalipto observaram que plantas cultivadas em substratos que receberam biofertilizante inoculado promoveram um incremento no número médio de folhas de até 177, 7 e 288 % em relação a plantas que receberam adubação nitrogenada com uréia e aquelas que não receberam adubação nitrogenada, respectivamente. É importante observar que no estudo de González-Díaz et al. (2019) a maior dose aplicada de biofertilizante proporcionou ao eucalipto, em um ciclo de 105 dias, um maior número de folhas e ao final do experimento um substrato com maior teor de N em relação aos demais. A ausência dos efeitos na SF nos tratamentos de inoculação com bactérias diazotróficas avaliadas em nosso estudo (Figura 2a) possivelmente se relaciona a não alteração nos conteúdos de N-Planta presentes na biomassa das plantas de eucalipto (Figura 1b).

A TCA do eucalipto, também é um bom indicador do potencial de promoção de crescimento quando da inoculação com os diferentes microrganismos diazotróficos. Ao contrário das nossas observações, González-Díaz et al. (2019) observaram que o uso de biofertilizante contendo *Azotobacter spp* e *Azospirillum spp* aumentou o crescimento em altura de plantas de eucalipto em até 32,3 % comparativamente a plantas cultivadas em substrato (Sem inoc. + N) e 60,8 % em relação a plantas cultivadas em substrato (Sem inoc. – N). Gírio et al. (2015) observaram que a inoculação de cana de açúcar com bactérias promotoras de

crescimento de plantas (BPCP) aumentou a somatória das alturas dos perfilhos de cana de açúcar em relação ao controle (Sem inoc. – N). Aos 180 dias após o transplântio das mudas de cana de açúcar esses autores observaram que o tratamento com inoc. + 50 kg/ha de N promoveu um acréscimo de 23 % na somatória de altura dos perfilhos em relação ao tratamento Sem. inoc. + 50 kg/ha de N. Esse maior sucesso das BPCP quando associadas à adubação nitrogenada nos demonstram que o potencial de algumas BPCP é complementar e que podem responder de acordo com a disponibilidade de N no solo. Isso tem uma implicação muito prática em nosso estudo uma vez que utilizamos um solo pobre em N e aplicamos uma sub dose de N nos tratamentos (Sem inoc. – N) e (Com inoc. – N). Embora tenhamos observado diferenças significativas quando comparamos apenas a TCA de plantas cultivadas em solos (Com inoc. – N), nenhuma dessas plantas apresentou maior TCA em relação àquelas cultivadas (Sem inoc. – N) (Figura 2b). Também foi possível observar que tanto a SF (Figura 2b) e a TCA (Figura 2b) das plantas cultivadas (Sem inoc. + N) foi superior aos tratamentos (Sem inoc. – N). Isso nos permite afirmar que os resultados encontrados para a SF e TCA foram determinados pelo conteúdo de N nas plantas (Figura 1a).

Por outro lado, embora o nosso estudo tenha avaliado o eucalipto ainda na fase de muda, o diâmetro do fuste de árvores de eucalipto é uma das variáveis de produtividade florestal que mais se correlacionam com a produtividade da cultura. Jesus et al. (2012) avaliando a relação de doses e fontes de N com crescimento e o acúmulo de N em plantas de eucalipto observaram que a adubação nitrogenada proporcionou um aumento do crescimento em volume do tronco de até 58,1 % em relação ao tratamento que não recebeu adubação nitrogenada. Em estudo realizado por Gonzáles-Días et al. (2019) foi observada a influência de biofertilizantes contendo bactérias diazotróficas na disponibilidade de N para o eucalipto e sua influencia positiva no desenvolvimento do caule. Porém em nosso estudo, a TCDC média das plantas cultivadas (Sem inoc. + N) foi maior que a TCDC média de plantas que receberam (Com inoc. – N) (Figura 2b). Enquanto Aquino et al. (2019) observaram que a inoculação com Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP) promoveu maior crescimento do diâmetro do caule do milho em relação a solos sem e com a aplicação de N, embora eles tenham observado um maior conteúdo de N da parte aérea de plantas Sem inoc. + N.

Curiosamente, nós observamos que plantas cultivadas em solos inoculados com a bac. 23 apresentaram uma TCDC 25 % maior em relação àquelas cultivadas em solos (Sem inoc. – N) (Figura 2b). Porém, não podemos atribuir esses resultados ao N-Planta uma vez que plantas cultivadas em solos inoculados com a Bac.23 não apresentaram maior N-Planta (Figura 1b). Esses resultados demonstram que no caso do tratamento (Sem inoc. + N) o

N-Planta foi responsável pela maior TCDC do eucalipto. Por outro lado, quando comparamos a TCDC apenas entre tratamentos (Com inoc. – N) observamos um maior potencial de algumas bactérias sem que tenha havido diferenças significativas no N-Planta.

Em testes prévios, realizados em laboratório, com os microrganismos utilizados em nosso trabalho, foi constatado que os inoculantes Bac. 15, 27, 50, 64, 69, 74, 76 e 77 podem atuar em três processos promotores de crescimento de plantas (FBN, produção de Ácido indol-ácetico e solubilização de P). Porém, dada as características do solo utilizado e a quantidade de P fornecida via adubação em nosso estudo é muito remota a possibilidade da solubilização de P, ter interferido na TCDC.

É possível que a maior TCDC do eucalipto promovida pela Act. 23 em relação a de plantas cultivadas em solos (Sem inoc. – N) e diferenças encontradas quando comparamos apenas plantas cultivadas em solos (Com inoc. – N) tenham sido em função da produção de AIA. Porém, mesmo que outros mecanismos estejam envolvidos na TCDC a relação é muito íntima com o N, uma vez que esse nutriente é fundamental para a multiplicação celular, além de participar da produção de proteínas, ácidos nucleicos e clorofila (González-Díaz et al, 2019).

A ausência de diferenças significativas para a MMSP cultivadas em solos inoculados com os microrganismos diazotróficos quando comparados entre si ou com plantas cultivadas em solos (Sem inoc. – N) (Figura 1a) são claramente determinadas pela ausência de diferenças no N-Planta (Figura 1b). No estudo realizado por Jesus et al. (2012) foi observado um incremento de 47,2 % da massa de matéria seca da parte aérea do eucalipto que recebeu adubação nitrogenada em relação àquele que não recebeu adubação nitrogenada. No entanto, Gonzales Dias (2019) observaram que o cultivo de mudas de eucalipto por um período de 105 dias em substrato fertilizado com biofertilizante inoculado com *Azotobacter spp* e *Azospirillum spp* aumentou a produção de MMSP das mudas de eucalipto em 148,2 % e 184,5 % comparativamente à MMSP de mudas cultivadas em substratos com adubação nitrogenada e sem adubação nitrogenada, respectivamente. Gírio et al. (2015) avaliando a inoculação de cana de açúcar por meio do consórcio de cinco BPCP (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Azospirillum amazonense*, *Burkholderia tropica*, *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans*) associada à adubação nitrogenada observaram que essa associação proporcionou uma maior MMSP em relação à adubação nitrogenada sem inoculação.

Os estudos mencionados no parágrafo anterior demonstram a influência do N na produção de massa de matéria seca de plantas bem como a possibilidade de incrementos pela inoculação com BPCP. Por meio do nosso estudo observamos que a adubação nitrogenada proporcionou maior produção de MMSP ao eucalipto, onde a média do N-Planta cultivadas em

solos (Sem inoc. + N) foi de 307,12; 332,14; 311,04; 316,60; 292,32; 343,53; 319,54; 342,50; 335,56; 350,20; 349,84; 321,26; 333,12 e 347, 77 % maior em relação à média do N-Planta cultivadas (Com inoc. – N) Bac. 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48, 74 e act. 9, 57 e 23, respectivamente. Portanto, possivelmente, a maior média do N-Planta cultivadas em solos que receberam adubação nitrogenada justifica o incremento de 107, 09; 127,37; 111,36; 118,99; 104,83; 122,44; 118,12; 117,02; 103,79; 116,10; 114,59; 112,33; 119,27 e 120,04 % em sua MMSP em relação à MMSP de plantas cultivadas em solos (Com inoc. – N) Bac. 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48, 74 e Act. 9, 57 e 23, respectivamente.

Os conteúdos de N das plantas cultivadas em solos com inoculação de Bac. e Act. sugerem baixa FBN por parte dos diferentes tratamentos de inoculações nas condições do nosso estudo. Porém, a baixa FBN não significa que esses microrganismos não possuem potencial de FBN, uma vez que essa afirmação depende de como esses microrganismos se estabeleceram no solo. Possivelmente, a baixa FBN por parte dos microrganismos esteja associada à competição generaliza por N, envolvendo microrganismos inoculados, nativos e a planta. No entanto, ao verificarmos os valores de DeltaN nas plantas (Figura 1c), é possível verificar uma tendência em maior acúmulo de N na biomassa das plantas onde os solos foram inoculados com as Bac. 43, 27, 64, 77, 76, 50, 15, 69, 48 e Act. 57 e 23, que apresentaram um DeltaN bruto superior às Bac. 09 e 74 em especial Bac. 43 e 76 que apresentaram valores de DeltaN de 9,5 e 12,8 % superior aos das Bac. 09 e 74 (Figura 2c). Portanto, alguns microrganismos inoculados podem ter se estabelecido melhor no solo, existindo a possibilidade de maiores acúmulos de N na planta nas condições do nosso estudo.

A biomassa microbiana é um importante indicador de qualidade do solo e está associada a outros indicadores como a ciclagem da MOS. Esses dois indicadores, apresentam forte interação, onde a MOS constitui fonte de C, energia e nutrientes para o crescimento e desenvolvimento microbiano. Os microrganismos inoculados nos solos avaliados em nosso estudo possivelmente foram submetidos a uma forte competição por N, com a planta e microrganismos nativos. Tal fato pode ser verificado quando observamos os maiores teores de CBM médio dos solos (Sem inoc. – N), com exceção dos solos inoculados com as Bac. 27, 48 e 74 (Figura 3a). Por outro lado, os solos inoculados com as Bac. 43, 64, 77, 76, 50, 15 e 69 e com act. 09, 57 e 23 apresentaram menor CBM em relação àqueles inoculados com as Bac. 27, 48 e 74.

Poucos estudos demonstram os efeitos do N no estabelecimento da comunidade microbiana. Porém, em um estudo realizado por Sugihara et al. (2010) eles observaram que a competição por N, entre planta e microrganismos nativos impossibilitou o crescimento

microbiano. O estresse provocado pela competição entre os microrganismos provoca um elevado gasto de energia, devido ao aumento da taxa de respiração, e conseqüentemente a redução do CBM.

A redução significativa do NBM foi observada em apenas alguns solos inoculados (Bac. 76, Bac. 15 e Bac. 23), seguindo a tendência observada para o CBM (Figura 3b). Diferentemente do CBM, o NBM não apresentou diferenças significativas em relação aos solos inoculados com Bac. e Act e nem quando comparado ao tratamento (Sem inoc. + N).

Os solos com os inoc. de Bac. 27 apresentaram uma média alta para a relação C/N-BM em relação à média observada nos solos sem inoculação (Figura 3c), isso foi determinado pelo maior CBM e NBM encontrado nos solos sem inoc. – N e que conseqüentemente diminuiu a relação C/N-BM dos solos (Sem inoc. – N). Os resultados encontrados em nosso estudo para as Bac. 23 e 76, estão de acordo com os encontrados por Sugihara et al. (2010), os quais observaram o aumento da relação C/N da biomassa microbiana quando o NBM diminuiu.

O nosso estudo também associou a alta relação C/N das Bac. 23 e 76 com o menor CBM. Segundo Wallenstein et. Al. (2005) a razão C/N média das bactérias é 6 enquanto a dos fungos é 15. Curiosamente, nós observamos que as Bac. 43, 27, 76 e Act. 57 e 23 apresentaram maior relação C/N-BM em relação às demais ao mesmo passo observamos que todos os solos inoculados com essas Bac. e Act. apresentaram tendências de incrementar o N-Planta, o que pode ser observado por meio do Delta-N (Figura 1c). No entanto, alguns solos inoculados com Bac. e Act. que apresentaram relação C/N-BM mais baixa em relação às demais, também apresentaram Delta-N positivo. Já, os solos inoculados com a Bac. 74 e Act. 09 além de apresentar menor relação CN-BM apresentaram um Delta-N negativo. Portanto, apesar de algumas evidências, não podemos afirmar com clareza que as tendências de incremento no N-Planta estão associadas a uma maior relação C/N-BM.

As plantas de eucalipto conseguem acessar o N presente na MOS (Teixeira, 2017) por mecanismos intitulados como *Efeito priming rizosférico* (Kuzyakov et al., 2010). No entanto, em nosso estudo não foi possível observar reduções no COT líquido presentes inicialmente no solo antes do plantio do eucalipto ($0,59 \text{ dag kg}^{-1}$; Tabela 1). Tal fato não é o suficiente para constatar se houve a ocorrência de *Efeito priming rizosférico* no solo. Entretanto, nenhum dos solos inoculados com a Bac. e Act. apresentaram valores de COT superiores aos solos sem inoculação ou com adubação nitrogenada (Figura 4a). Porém, as inoculações com as Bac. 64, 77, 15, 69, 48, 74 e as Act. 09 e 57 proporcionaram no solo maiores teores de COT em relação às demais Bac. e Act. (Figura 4a). Além disso, nenhum dos tratamentos com diazotróficos proporcionou a diminuição do COT, considerando o valor inicial ($0,59 \text{ dag kg}^{-1}$; Tabela 1).

Os maiores teores de COT podem estar associados a um aumento das exsudações radiculares em alguns solos. A entrada de C no solo aumenta a atividade dos microrganismos e tem influência sobre a dinâmica da MOS (Adesemoye et al., 2009). Portanto, uma possível variação na taxa de exsudação entre os tratamentos pode ter influenciado os resultados do CBM, uma vez que exsudados são importantes fontes de nutrientes para os microrganismos que habitam a rizosfera das plantas (Shameer e Prasad, 2018). Todavia, essa possível maior atividade microbiana não influenciou o NT e nem as frações mais lábeis de N, com exceção do solo inoculado com a Bac. 23 que apresentou um incremento de 300 % em relação ao NL médio dos solos que receberam adubação nitrogenada (Figura 4c). No entanto, os solos que receberam adubação nitrogenada proporcionaram um incremento de 145,10; 202,74; 903,33; 305,35; 140,51; 187,34 e 172,04 % no CL do solo em relação aos solos inoculados com as Bac. 43, 64, 77, 76, 69, 74 e Act. 23, respectivamente. Por outro lado, nenhum dos solos inoculados apresentou menor CL em relação ao tratamento (Sem inoc. – N).

No trabalho de Gama Rodrigues et al. (1997), nos primeiros anos de cultivo as plantas de eucalipto não conseguiram acessar e absorver do solo todo o N necessário para atender suas necessidades ao passo que no quinto ano de cultivo a disponibilidade de N era superior à demanda. Dessa forma, a ausência de diferenças significativas entre o COT, CL, NT e NL (com exceção do NL dos solos Com inoc. Bac. 23) observadas quando comparamos os solos com inoc. – N ao sem inoc. – N pode estar relacionada à não alteração da taxa mineralização da MOS durante um ciclo de 125 dias de cultivo. Portanto, a ausência de alterações nos estoques de NT e NL quando comparamos os solos (Com inoc. – N) ao solo (Sem inoc. – N) nos mostra que a aquisição de N do solo entre esses tratamentos foi semelhante.

Nossos parâmetros de avaliação do desenvolvimento das plantas de eucalipto e seus reflexos no solo nos permitiram observar que o único parâmetro que apresentou diferenças significativas superiores ao tratamento (Sem inoc. – N) foi a TCDC, onde a Act. 23 proporcionou uma maior TCDC do eucalipto. No entanto, é perceptível algumas pequenas correlações que podem estar sinalizando algumas tendências do desempenho dos microrganismos diazotróficos inoculados no solo (Figura 5). De forma que as inoculações com as Bac. 43 (*Pandoraea sputorum*) e 76 (*Burkholderia sp.*) distinguiram-se das demais inoculações com Bactérias e Actinobactérias pela maior produção de MMSP total, sendo as mesmas correlacionadas entre si ou em relação à (Sem inoc. – N). A Bac. (*Pandoraea sputorum*) apresentou maior tendência em influenciar a taxa de crescimento em altura do eucalipto. Entretanto, a inoculação com a Bac. 76 nos solos proporcionou o maior acúmulo bruto de N em relação às plantas sem inoculação (Delta-N).

Assim, nosso estudo apresentando como pioneiro ao utilizar plantas de eucalipto em casa de vegetação configura-se em uma das primeiras tentativas da viabilização de inocular microrganismos diazotróficos com potenciais de FBN, os quais no período de até 95 dias após a inoculação não expressaram diferenças efetivas na produção do eucalipto e conteúdo de N. No entanto, estudos com maior período experimental e taxas de inoculações são incentivados, uma vez que tendências na atividades desses microrganismos em disponibilizar N para as plantas de eucalipto foram detectadas.

5. CONCLUSÕES

A inoculação das bactérias *Pandoraea sputorum*, *Pandoraea oxalativorans*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Paraburkholderia sp.*, *Burkholderia sp.*, *Pandoraea oxalativorans*, *Pandoraea oxalativorans*, *Burkholderia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Pandoraea oxalativorans* e Actinobactérias *Streptomyces panaciradicis*, *Streptomyces gramineus* e *Streptomyces malaytiense* em plantas de eucalipto, não foram eficientes em promover incrementos nas taxas de crescimento de altura e diâmetro das plantas, massa de matéria seca (raiz e parte aérea), superfície foliar e disponibilizar N via fixação biológica de nitrogênio para as plantas quando comparado as plantas sem fertilização com N.

Além disso, a inoculação das bactérias e actinobactérias não amenizaram ou estimularam a decomposição da matéria orgânica do solo, permanecendo inalteradas as frações totais e lábeis de C e N no solo.

Embora tenhamos observado que os microrganismos avaliados nesse estudo tenham promovido alguns efeitos sobre as plantas de eucalipto, não houve incremento significativo de N para as plantas em nenhum dos tratamentos com inoculação.

Os resultados deste estudo, reforçam que o desenvolvimento da FBN com o intuito de fornecer quantidades significativas de N para plantas de eucalipto e o entendimento de como os processos de FBN já existentes em solos florestais ocorrem, ainda são grandes desafios para a ciência.

6. REFERÊNCIAS

ADESEMOYE, A. O.; TORBERT, H. A.; KLOPPER, J. W. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. **Microbial ecology**, [s. l]

v. 58, n. 4, p. 921-929, May. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9531-y>. Acesso em: 25 jan. 2020.

AQUINO, J. P. A. DE *et al.* Plant growth-promoting endophytic bacteria on maize and sorghum1. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, GO, v. 49, e56241, Oct. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-40632019v4956241>. Acesso em: 10 dez. 2019.

Association of official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 11. th. **Association of official Analytical Chemists**. Washington, D.C.1970.

BARROS, N. F.; COMERFORD, N.B. Sustentabilidade da produção de florestas plantadas na região tropical. *In*: ALVAREZ V., V.H.; SCHAFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (eds). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. v.2. p.487-592.

BREMNER J. M., MULVANEY, C.S. Total nitrogen. *In*: PAGE, A.L. **Methods of soil analysis**. 2. th. Madison: American Society of Agronomy, 1982.

COMMISSION ON GENETIC RESOURCES FOR FOOD AND AGRICULTURE. **The state of the world's forest genetic resources**. Roma: FAO, 2014. 276 p. Disponível em: <https://www.fao.org/3/i3825e/i3825e.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2020.

DA SILVA, M. DE C. S *et al.* Nitrogen-Fixing Bacteria in Eucalyptus globulus Plantations. **PLoS ONE**. [s. l.], v. 9, n. 10, e111313, Oct. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone>. Acesso em: 22 fev. 2020.

DIXON, R.; KAHN, D. Genetic regulation of biological nitrogen fixation. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 2, n. 8, p. 621–631, Aug. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro954>. Acesso em: 11 jan. 2020.

DOS SANTOS, S. G *et al.* Development and nitrate reductase activity of sugarcane inoculated with five diazotrophic strains. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 199, n. 6, p. 863–873, Mar. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1357-2>. Acesso em: 10 fev. 2020.

FONSECA, E. DA S *et al.* The Microbiome of Eucalyptus Roots under Different Management Conditions and Its Potential for Biological Nitrogen Fixation. **Microbial ecology**, [s. l.], v. 75, n. 1, p. 183–191, Jan. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1014-y>. Acesso em: 25 jan. 2020.

GAMA-RODRIGUES, E. F. **Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana da serapilheira de povoamentos de eucalipto**. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Seropédica, RJ, 1997.

GATTO, A *et al.* Ciclagem e balanço de nutrientes no sistema solo-planta em um plantio de Eucalyptus sp., no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [Viçosa – MG], v. 38, n. 3, p. 879–887, jun. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832014000300019>. Acesso at: 12 mar. 2020.

GONZÁLEZ-DÍAZ, A *et al.* Effect of biofertilizers application on the growth of *Eucalyptus grandis* seedlings under greenhouse conditions. **Journal of Plant Nutrition**, [s. l.], v. 42, n. 19, p. 2560–2576, Aug. 2019.

Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1655040>. Acesso em: 09 dez. 2019.

GUPTA, V. V. S. R. *et al.* Diazotroph Diversity and Nitrogen Fixation in Summer Active Perennial Grasses in a Mediterranean Region Agricultural Soil. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [s. l.], v. 6, n. 115, n. p., Nov. 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00115>. Acesso em: 22 maio. 2020.

HODECKER, B. E. R *et al.* Boron delays dehydration and stimulates root growth in *Eucalyptus urophylla* (Blake, S.T.) under osmotic stress. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 384, n. 1–2, p. 185–199, July. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2196-4>. Acesso em: 03 de fev. 2020.

HODECKER, B. E. R *et al.* Water availability preceding long-term drought defines the tolerance of *Eucalyptus* to water restriction. **New Forests**, [s. l.], v. 49, n. 2, p. 173–195, Oct. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11056-017-9612-6>. Acesso em: 25 de mar. 2020.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Relatório Anual IBÁ**. São Paulo (Município): IBÁ, 2020. 122 p. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-iba-2020.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2022.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biol Fertil Soils**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 408–416, Sept. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s003740050451>.

Acesso em: 22 de maio. 2020.

JESUS, G. L de *et al.* Doses e fontes de nitrogênio na produtividade do eucalipto e nas frações da matéria orgânica em solo da região do cerrado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [Viçosa - MG], v. 36, n. 1, p. 201–214, abr. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000100021>. Acesso em: 15 jan. 2020.

KASCHUK, G.; HUNGRIA, M. Diversity and Importance of Diazotrophic Bacteria to Agricultural Sustainability in the Tropics. *In*: DE AZEVEDO, J., QUECINE, M. (eds.). **Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics**. 1th. ed. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 269–292. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-55804-2_12. Acesso em: 20 jan. 2020

KUZYAKOV, Y. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 42, n. 9, p. 1363–1371, Sept. 2010.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.04.003>. Acesso em: 22 dez. 2020.

LACLAU, J. P *et al.* Biogeochemical cycles of nutrients in tropical *Eucalyptus* plantations. **Forest Ecology and Management**, [s. l.], v. 259, n. 9, p. 1771–1785, Apr. 2010.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.06.010>. Acesso em: 10 dez. 2019.

MIGUEL, P. S. B *et al.* Diversity and distribution of the endophytic bacterial community at different stages of Eucalyptus growth. **Antonie van Leeuwenhoek**, [s. l.], v. 109, n. 6, p. 755–771, Mar. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10482-016-0676-7>. Acesso em: 10 dez. 2019.

NOVAIS R. F DE.; NEVES J. C. L.; BARROS N. F DE. Ensaio em ambiente controlado. *In*: OLIVEIRA A. J.; GARRIDO W. E.; ARAÚJO J. D.; LOURENÇO S. (eds). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**, 1. ed. Brasília, DF: Embrapa-SEA, 1991. p. 189-253.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M. DE.; MARRA, L. M.; MOREIRA, F. M. DE S. Evaluation of plant growth-promoting traits of Burkholderia and Rhizobium strains isolated from Amazon soils for their co-inoculation in common bean. **African Journal of Microbiology Research**, [s. l.], v. 7, n. 11, p. 948–959, Mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1055>. Acesso em: 20 de jan. 2020.

SCHULTEN, H-R.; SCHNITZER, M.; SCHNITZER, M. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. **Biology and Fertility of Soils**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 1 – 15, Nov. 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s003740050335>. Acesso em: 10 fev. 2020.

SHAMEER, S.; PRASAD, T. N. V. K. V. Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. **Plant Growth Regulation**, [s. l.], v. 84, n. 3, p. 603–615, Jan. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0365-1>. Acesso em: 03 fev. 2020.

SHANG, C.; TIESSEN, H. Organic matter lability in a tropical oxisol: evidence from shifting cultivation, chemical oxidation, particle size, density, and magnetic fractionations. **Soil Science**, [s. l.], v. 162, n. 11, p. 795-807, Nov. 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00010694-199711000-00004>. Acesso em: 23 dez. 2019.

SUGIHARA, S *et al.* Dynamics of microbial biomass nitrogen in relation to plant nitrogen uptake during the crop growth period in a dry tropical cropland in Tanzania. **Soil Science and Plant Nutrition**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 105–114, Dec. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00428.x>. Acesso em: 20 fev. 2020.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174 p.

TEIXEIRA, R. DA S. **Above and below ground plant inputs and soil organic matter cycling in an eucalypt plantation in the cerrado biome**. 2017. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Viçosa, MG, 2017.

WALLENSTEIN, M. D. *et al.* Nitrogen fertilization decreases forest soil fungal and bacterial biomass in three long-term experiments. **Forest Ecology and Management**, [s. l.], v. 222, n. 1–3, p. 459–468, Feb. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.11.002>. Acesso em: Dec. 2019.

YEOMANS, J. C.; BREMNER, J. M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s. l.], v. 19,

n. 13, p. 1467–1476, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103628809368027>.
Acesso em: 20 nov. 2019.

7. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1 - Médias de massa de matéria seca de folhas (MMSF), massa de matéria seca do caule (MMSC), massa de matéria seca de galhos (MMSG), massa de matéria seca de raízes (MMSR), massa de matéria seca da parte aérea (MMSPA), massa de matéria seca da planta (MMSP), taxa de crescimento em diâmetro do caule (TCDC), taxa de crescimento em altura (mm) e superfície foliar (SF).

TRATAMENTOS	MMSF (g)	MMSC (g)	MMSG (g)	MMSR (g)	MMSPA (g)	MMSP (g)	TCDC (mm)	TCA (mm)	SF (m ²)
Bac. 43	17,45	6,24	2,91	15,83	26,60	42,43	0,36	9,10	0,22
Bac. 27	15,31	5,78	2,45	15,11	23,53	38,64	0,33	6,23	0,19
Bac. 64	16,91	6,07	2,79	15,80	25,77	41,57	0,32	8,33	0,21
Bac. 77	15,47	6,43	2,80	15,42	24,70	40,12	0,38	5,80	0,20
Bac. 76	16,70	6,17	2,83	17,21	25,69	42,90	0,38	7,57	0,21
Bac. 50	15,37	6,24	2,42	15,48	24,02	39,50	0,35	4,50	0,20
Bac. 15	16,12	6,05	2,65	15,47	24,81	40,28	0,32	7,33	0,21
Bac. 69	16,02	6,05	2,57	15,85	24,64	40,49	0,33	5,37	0,20
Bac. 48	16,62	5,72	2,64	18,15	24,97	43,11	0,30	7,50	0,21
Bac. 74	15,98	5,73	2,41	16,54	24,12	40,66	0,32	4,57	0,20
Act. 09	16,15	6,11	2,80	15,89	25,06	40,95	0,37	7,03	0,21
Act. 57	16,58	6,52	2,95	15,34	26,04	41,38	0,37	6,00	0,21
Act. 23	16,26	6,40	2,63	14,79	25,28	40,07	0,40	6,20	0,21
Sem inoc. - N	16,37	5,93	2,54	15,09	24,85	39,93	0,32	6,67	0,21
Sem inoc. + N	37,44	11,88	10,76	27,79	60,08	87,86	0,57	18,95	0,54

Fonte: Autor

Tabela 2 - Médias do nitrogênio das raízes (N-R), nitrogênio das folhas (N-F), nitrogênio dos galhos (N-G), nitrogênio da parte aérea (N-PA), nitrogênio da planta (N-Planta), diferença do conteúdo de nitrogênio dos tratamentos com inoculação em relação ao conteúdo de nitrogênio do controle sem inoculação e sem adubação nitrogenada (Delta – N).

TRATAMENTOS	N-R (mg)	N-F (mg)	N-G (mg)	N-C (mg)	N-PA (mg)	N-Planta (mg)	Delta-N (mg)
Bac. 43	51,08	104,42	6,24	8,15	118,80	169,88	15,42
Bac. 27	56,03	90,22	5,53	8,28	104,02	160,05	5,59
Bac. 64	49,48	103,35	6,83	8,60	118,78	168,26	13,80
Bac. 77	56,63	92,91	7,01	9,46	109,39	166,02	11,56
Bac. 76	59,45	101,70	6,73	8,41	116,85	176,29	21,83
Bac. 50	50,13	90,43	5,54	9,85	105,81	155,94	1,48
Bac. 15	48,80	101,82	5,62	8,63	116,06	164,86	10,39
Bac. 69	46,79	95,34	5,73	8,44	109,51	156,30	1,84
Bac. 48	47,72	96,52	6,09	8,45	111,07	158,79	4,33
Bac. 74	48,58	91,30	5,99	7,77	105,05	153,63	-0,83
Act. 09	44,25	93,14	6,85	9,52	109,50	153,75	-0,71
Act. 57	50,84	96,04	6,51	10,79	113,34	164,18	9,72
Act. 23	46,55	97,91	6,10	9,13	113,14	159,68	5,22
Sem inoc. - N	40,65	99,76	5,53	8,51	113,81	154,46	0,00
Sem inoc.+ N	145,03	464,87	47,23	34,50	546,59	691,63	

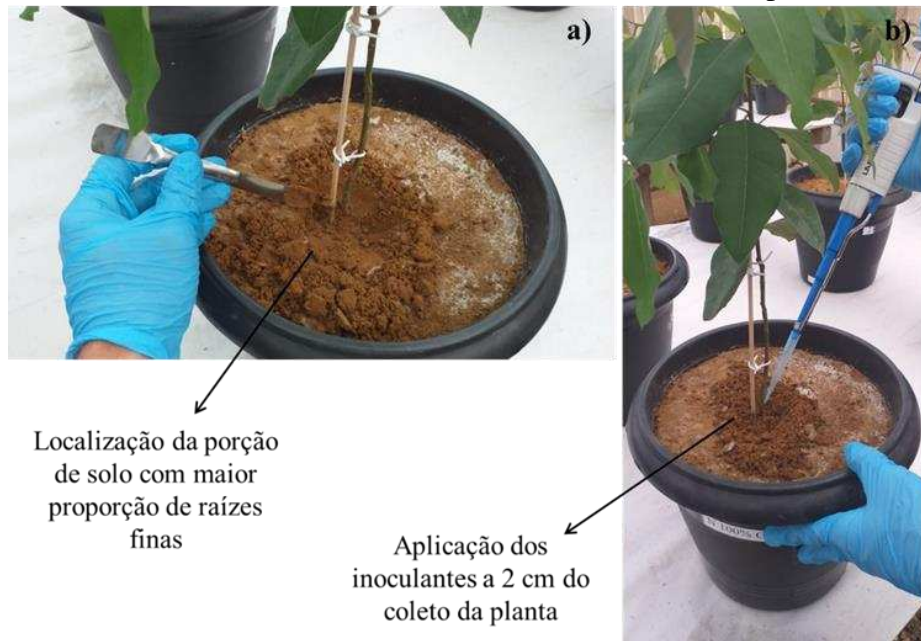
Fonte: Autor

Tabela 3 - Médias do nitrogênio total (NT), carbono orgânico total (COT), relação carbono e nitrogênio do solo (C/N do solo), carbono da biomassa microbiana (N-BM), nitrogênio da biomassa microbiana do solo (N-BM), relação carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (C/N-BM), carbono lábil do solo (CL) e nitrogênio lábil do solo (NL).

TRATAMENTOS	NT (g /kg)	COT (dag/kg)	C/N do Solo	C-BM (µg/g)	N-BM (µg/g)	C/N-BM	CL (g/kg)	NL (mg/kg)
Bac. 43	0,26	0,65	26,08	38,33	4,67	8,98	0,33	15,00
Bac. 27	0,33	0,60	18,74	66,30	4,84	13,62	0,64	18,33
Bac. 64	0,27	0,75	28,11	34,69	7,60	4,55	0,27	12,50
Bac. 77	0,31	0,79	27,95	26,41	7,53	3,85	0,08	10,00
Bac. 76	0,28	0,59	21,33	38,08	3,61	11,63	0,20	10,00
Bac. 50	0,32	0,65	22,50	32,69	9,13	3,61	0,42	17,50
Bac. 15	0,37	0,80	23,54	24,97	4,13	6,63	0,55	7,50
Bac. 69	0,33	0,75	22,79	41,55	7,36	5,80	0,34	7,50
Bac. 48	0,25	0,81	32,14	51,98	8,25	6,28	0,52	16,67
Bac. 74	0,29	0,85	29,68	52,54	10,19	5,06	0,28	17,50
Act. 09	0,32	0,89	27,76	43,17	7,73	6,07	0,44	15,00
Act. 57	0,25	0,74	29,90	41,37	5,59	9,89	0,43	20,00
Act. 23	0,29	0,56	19,62	29,44	3,73	9,01	0,30	10,00
Sem inoc. - N	0,34	0,70	21,63	69,51	13,96	5,25	0,36	17,50
Sem inoc.+ N	0,36	0,82	23,65	28,76	6,26	4,87	0,81	5,00

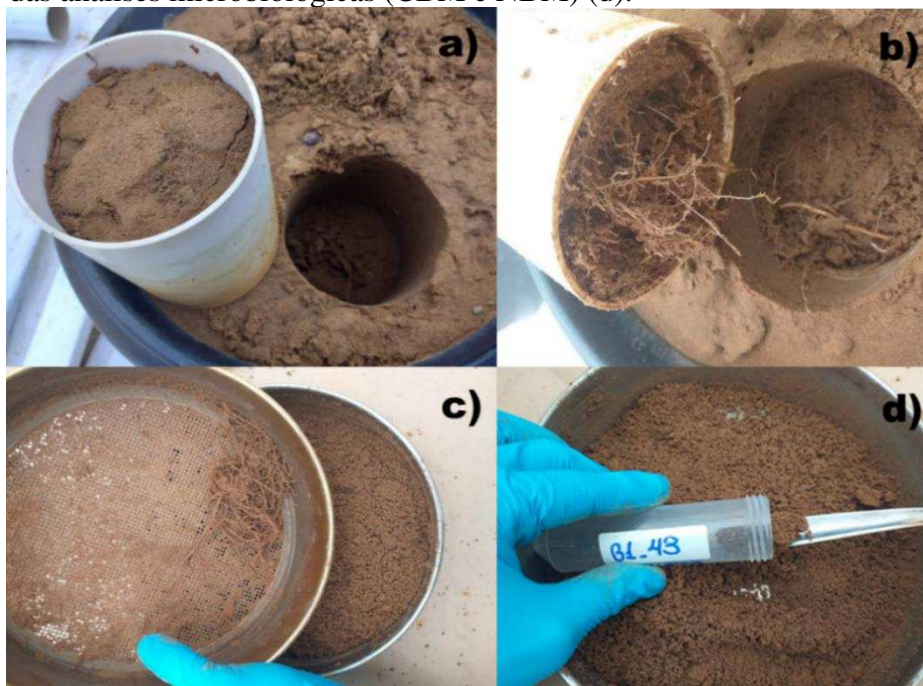
Fonte: Autor

Figura 1 - Aplicação dos inoculantes nas plantas de eucalipto. Localização da porção de solo com maior proporção de raízes por meio de uma espátula (a) e posterior aplicação dos inoculantes a uma distância de 2 cm, em todo o entorno do coleto das plantas (b).



Fonte: Autor

Figura 2 - Sonda de PVC e localização da porção de solo coletada para realização das análises químicas referentes ao solo: C e N total (COT e NT), C e N lábil (CL e NL) e C e N da biomassa microbiana (CBM e NBM) (a). Presença de raízes na porção de solo coletada, englobando solo rizosférico e não rizosférico (b). Retirada de raízes da amostra e passagem do solo em peneira de 2 mm (c). Armazenamento e preservação da umidade da subamostra de solo, utilizada para realização das análises microbiológicas (CBM e NBM) (d).



Fonte: Autor