

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PRÓ REITORIA DE GRADUAÇÃO  
ESCOLA POLITÉCNICA E DE ARTES  
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**SELEÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO PARA  
SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO, ZINCO E PRODUÇÃO DE AMILASE**

KAREN SOUSA GOULART

Goiânia  
2024

KAREN SOUSA GOULART

**SELEÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO PARA  
SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO, ZINCO E PRODUÇÃO DE AMILASE**

Artigo apresentado como requisito parcial para composição de média final na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do curso de graduação em Agronomia, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, PUC-Goiás.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Roberta Paula de Jesus

Goiânia  
2024

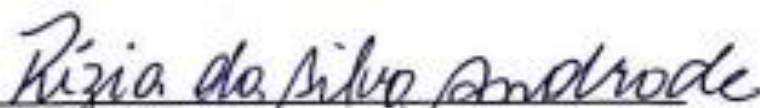
KAREN SOUSA GOULART

SELEÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO PARA  
SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO, ZINCO E PRODUÇÃO DE AMILASE

BANCA EXAMINADORA



Presidente (Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Roberta Paula de Jesus)  
Pontifícia Universidade Católica de Goiás



Membro I (Prof.<sup>a</sup> Me. Rizia da Silva Andrade)  
Pontifícia Universidade Católica de Goiás



Membro II (Dr. Fábio José Gonçalves)  
AGROLAB Análises de Sementes

Aprovada em 22 / 06 / 24.

# **SELEÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO PARA SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO, ZINCO E PRODUÇÃO DE AMILASE**

## **RESUMO**

Este trabalho de conclusão de curso aborda sobre microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCVs) para a solubilização de fósforo e zinco, bem como a produção de amilase. Os MPCVs são microrganismos que podem colonizar a rizosfera das plantas, promovendo seu crescimento através de diversos mecanismos, incluindo a solubilização de nutrientes essenciais. No estudo, foram analisados diferentes isolados bacterianos quanto à sua capacidade de solubilizar fósforo e zinco, além de produzir enzimas amilolíticas. Os isolados bacterianos foram testados em meio de cultura específica para cada nutriente. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para determinar a significância estatística dos resultados, seguida pelo teste de Scott-Knott para comparações múltiplas. Os resultados indicaram que alguns isolados, como o AGL 14, apresentaram alta capacidade de solubilização de fósforo, enquanto outros, como o AGL 26, mostraram baixa ou nenhuma atividade. A análise dos índices de solubilização de zinco dos isolados bacterianos revelou uma ampla variação em suas capacidades, os diâmetros médios de halo de solubilização de zinco para AGL 2, AGL 9 e AGL 4 destacam a capacidade dessas cepas em formar zonas claras ao redor das colônias. Os dados obtidos da atividade de amilase revelam uma variação significativa entre os isolados bacterianos testados. A atividade de amilase, medida pelo diâmetro do halo de degradação ao redor das colônias, é indicativa da capacidade das cepas em hidrolisar o amido presente no meio de cultura.

Palavras-chave: índice de solubilização, microrganismos, degradação.

## **SELECTION OF GROWTH PROMOTING BACTERIA FOR SOLUBILIZATION OF PHOSPHORUS, ZINC AND AMYLASE PRODUCTION**

### **ABSTRACT**

This course conclusion work discusses plant growth-promoting microorganisms (MPCVs) for the solubilization of phosphorus and zinc, as well as the production of amylase. MPCVs are microorganisms that can colonize the rhizosphere of plants, promoting their growth through several mechanisms, including the solubilization of essential nutrients. In the study, different bacterial isolates were analyzed for their ability to solubilize phosphorus and zinc, in addition to producing amylolytic enzymes. The bacterial isolates were tested in a specific culture medium for each nutrient. Analysis of variance (ANOVA) was used to determine the statistical significance of the results, followed by the Scott-Knott test for multiple comparisons. The results indicated that some isolates, such as AGL 14, showed high phosphorus solubilization capacity, while others, such as AGL 26, showed low or no activity. Analysis of the zinc solubilization indices of bacterial isolates revealed a wide variation in their capabilities, the average zinc solubilization halo diameters for AGL 2, AGL 9 and AGL 4 highlight the ability of these strains to form clear zones around colonies . The data obtained from amylase activity revealed a significant variation among the bacterial isolates tested. Amylase activity, measured by the diameter of the degradation halo around the colonies, is indicative of the strains' ability to hydrolyze the starch present in the culture medium.

Keywords: solubilization index, microorganisms, degradation.

## SUMÁRIO

|                                                                             |           |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                                  | <b>9</b>  |
| <b>2. OBJETIVO .....</b>                                                    | <b>11</b> |
| <b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>                                       | <b>11</b> |
| <b>3.1 Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (MPCP) .....</b> | <b>11</b> |
| <b>3.2 As Rizobactérias .....</b>                                           | <b>12</b> |
| <b>3.3 Solubilização de fósforo pelas bactérias.....</b>                    | <b>14</b> |
| <b>3.4 Solubilização de Zinco pelas bactérias .....</b>                     | <b>16</b> |
| <b>3.5 Produção de amilase.....</b>                                         | <b>17</b> |
| <b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                          | <b>20</b> |
| <b>4.1 Caracterização da área experimental.....</b>                         | <b>20</b> |
| <b>4.2 Análise estatística .....</b>                                        | <b>20</b> |
| <b>4.3 Tratamentos .....</b>                                                | <b>20</b> |
| <b>4.4 Preparo do Caldo Nutriente.....</b>                                  | <b>20</b> |
| <b>4.5 Meios de cultura.....</b>                                            | <b>22</b> |
| 4.5.1 Produção de solubilizadores (colorimétrico e quantitativo) .....      | 23        |
| 4.5.1.1 Fósforo (colorimétrico e quantitativo) .....                        | 23        |
| 4.5.1.2 Zinco (colorimétrico e quantitativo) .....                          | 24        |
| 4.5.2 Produção de Enzimas Extracelulares (Colorimétricos) .....             | 24        |
| 4.5.2.1 Amilase .....                                                       | 24        |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                      | <b>26</b> |
| <b>5.1 Fósforo.....</b>                                                     | <b>26</b> |
| <b>5.2 Zinco .....</b>                                                      | <b>29</b> |
| <b>5.3 Amilase .....</b>                                                    | <b>31</b> |
| <b>6. CONCLUSÃO .....</b>                                                   | <b>33</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                     | <b>34</b> |

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Média do Índice de solubilização de fósforo dos isolados bacterianos. Teste de Scott-Knot a 5% de significância. Goiânia, Goiás, 2024.....28
- Tabela 2.** Média do Índice de solubilização de zinco dos isolados bacterianos. Teste de Scott-Knot a 5% de significância. Goiânia, Goiás, 2024.....30
- Tabela 3.** Média do Índice de solubilização de amido dos isolados bacterianos. Teste de Scott-Knot a 5% de significância. Goiânia, Goiás, 2024.....32

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Meio Nutriente no Erlenmeyer e autoclave.....                                                                              | 21 |
| <b>Figura 2.</b> Micropipeta de 100ul microlitros e Erlenmeyer dentro da câmara de fluxo-<br>multiplicação bactérias.....                   | 21 |
| <b>Figura 3.</b> Mesa de agitação constante de 150 rpm.....                                                                                 | 22 |
| <b>Figura 4.</b> Diâmetro da colônia e diâmetro do halo, utilizados para calcular o Índice de<br>Solubilização (IS).....                    | 23 |
| <b>Figura 5.</b> Soluções de $K_2HPO_4$ (fosfato de potássio) e $CaCl_2$ (cloreto de cálcio)....                                            | 24 |
| <b>Figura 6.</b> Vertendo o meio em placas de Petri, dentro da câmara de fluxo.....                                                         | 25 |
| <b>Figura 7.</b> Micropipeta regulada para 10ul microlitros e placas de Petri dentro da<br>câmara de fluxo (Plaqueamento de bactérias)..... | 25 |
| <b>Figura 8.</b> Placa com solução de iodo a 1% em iodeto de potássio a 2%.....                                                             | 26 |
| <b>Figura 9.</b> Média do diâmetro do halo e da colônia dos isolados bacterianos, no meio<br>Fósforo.....                                   | 28 |
| <b>Figura 10.</b> Média do diâmetro do halo e da colônia dos isolados bacterianos, no<br>meio Zinco.....                                    | 30 |
| <b>Figura 11.</b> Média do diâmetro do halo e da colônia dos isolados bacterianos, no<br>meio Amilase.....                                  | 32 |
| <b>Figura 12.</b> Isolados AGL 2, AGL 14, AGL 9 e AGL 4.....                                                                                | 33 |

## 1. INTRODUÇÃO

Com o avanço da agricultura sustentável, a procura por métodos que favoreçam o crescimento vegetal de forma eficiente e ecologicamente responsável tem se intensificado. Nesse contexto, os microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCVs) emergem como parceiros essenciais, apresentando soluções inovadoras para aumentar a produtividade das culturas, reduzir a dependência de fertilizantes químicos e aprimorar a qualidade do solo. Dentre esses microrganismos, destacam-se as rizobactérias e as bactérias solubilizadoras de nutrientes como fósforo e zinco, assim como aquelas especializadas na degradação de amido, todas contribuindo para a sustentabilidade e eficiência dos sistemas agrícolas.

Os MPCVs são uma categoria diversificada de microrganismos presentes na rizosfera, à zona do solo que circunda as raízes das plantas, onde interações complexas e benéficas ocorrem entre os microrganismos e as plantas hospedeiras. Esses microrganismos exercem influência positiva sobre o crescimento e desenvolvimento vegetal por meio de múltiplos mecanismos, que incluem a fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, produção de fito-hormônios e metabolitos bioativos, bem como proteção contra patógenos (Abhilash et al., 2016; Chagas et al., 2017).

A importância das rizobactérias, um grupo proeminente de MPCVs, reside na sua capacidade de colonizar a rizosfera e estabelecer interações simbióticas com as plantas. Bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Azospirillum* são exemplos bem estudados, mostrando-se eficazes na promoção do crescimento vegetal por meio da produção de fito-hormônios, fixação de nitrogênio atmosférico e solubilização de fosfato, fundamentais para a absorção de nutrientes pelas plantas (Berg et al., 2014; Santoyo et al., 2016).

A solubilização de fósforo (P) é um dos benefícios mais reconhecidos das rizobactérias. O fósforo, essencial para processos vitais como fotossíntese, respiração e transferência de energia, frequentemente se encontra em formas pouco disponíveis para as plantas nos solos agrícolas. Microrganismos solubilizadores de fosfato, como *Pseudomonas* e *Bacillus*, desempenham um papel crucial ao transformar formas inorgânicas de fósforo em formas solúveis, aumentando assim a disponibilidade desse nutriente essencial (Penn; Camberato, 2019; Chen et al., 2006).

Além do fósforo, o zinco (Zn) é outro nutriente fundamental cuja disponibilidade limitada nos solos tropicais impacta negativamente o crescimento das plantas. Bactérias como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Burkholderia* têm sido identificadas como capazes de solubilizar o zinco, facilitando sua absorção pelas plantas por meio de mecanismos como a acidificação e a produção de sideróforos (Khande et al., 2017; Saravanan et al., 2011).

Por fim, a degradação do amido por bactérias promotoras de crescimento desempenha um papel vital na ciclagem de nutrientes e na saúde do solo. Bactérias como *Bacillus* e *Pseudomonas* produzem enzimas amilolíticas que degradam o amido em açúcares simples, fornecendo não apenas energia para o crescimento bacteriano, mas também nutrientes facilmente assimiláveis para as plantas, promovendo assim a produtividade agrícola de forma sustentável (Khan et al., 2009; Bashan et al., 2014).

Portanto, este trabalho visa explorar o potencial das bactérias promotoras de crescimento vegetal na solubilização de fósforo, zinco e produção de amilase, fornecendo entendimentos cruciais para o desenvolvimento de estratégias agrícolas sustentáveis e eficientes. A compreensão dessas interações microbianas não apenas amplia nosso conhecimento sobre os ecossistemas agrícolas, mas também promove práticas agrícolas mais responsáveis e produtivas para o futuro.

## **2. OBJETIVO**

O presente trabalho tem como objetivo selecionar dentre as bactérias promotoras de crescimento vegetal, as que são capazes de solubilizar fósforo e zinco e produzir amilase, visando fornecer insights relevantes para investigações futuras sobre essas interações microbianas.

## **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (MPCP)**

No solo, um universo de microrganismos tece uma teia complexa de interações com as plantas, impulsionando seu crescimento e vigor. Esses aliados microscópicos são referidos na literatura como microrganismos promotores do crescimento vegetal (Abhilash et al., 2016). Emergem como uma promessa no contexto da economia verde, promovendo o aumento da produtividade das culturas, a redução do uso de fertilizantes químicos, a melhora da saúde do solo e o aumento da resistência das plantas a estresses (Chagas et al., 2017). Representando, assim, uma alternativa estratégica para a intensificação sustentável dos sistemas agrícolas (Steffen et al., 2008).

O papel benéfico da comunidade microbiana na promoção do crescimento das plantas pode se manifestar de várias maneiras. Esses microrganismos atuam na mobilização e transporte de nutrientes para as plantas, por meio da fixação de nitrogênio e da solubilização/mineralização de fósforo, além de aumentarem a área de absorção das raízes. Eles produzem fito-hormônios e compostos orgânicos voláteis que estimulam o desenvolvimento vegetal e protegem as plantas contra patógenos. Além disso, a comunidade microbiana pode ajudar as plantas a tolerarem condições adversas, como alta salinidade e seca, que afetam seu desenvolvimento e produtividade (Castiglioni et al., 2008).

Segundo Chouan et al. (2021), os microrganismos desempenham um papel crucial no crescimento das plantas ao regularem fitormônios, aumentando os níveis de auxina, giberelina, citocinina e 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase, uma enzima que reduz o etileno. Eles também biodisponibilizam nutrientes essenciais para o desenvolvimento vegetal e produzem substâncias que induzem resistência sistêmica nas plantas, como ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos, prevenindo ou

limitando os danos causados por fitopatógenos. Além disso, microrganismos benéficos secretam compostos orgânicos voláteis, que promovem resistência a doenças e tolerância ao estresse abiótico. Os PGPM (Plant Growth-Promoting Microorganisms) também podem mitigar o estresse aumentando a produção de exopolissacarídeos, osmorreguladores e antioxidantes (Lopes et al., 2021).

### 3.2 As Rizobactérias

Dentro do grupo de microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP), destacam-se bactérias gram-negativas dos gêneros *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* e *Rhizobium*, embora também sejam conhecidos alguns gêneros gram-positivos como *Bacillus* e *Paenibacillus*. Características como motilidade, quimotaxia, crescimento, aderência e resistência a estresses são essenciais para a sobrevivência desses microrganismos na rizosfera e para o sucesso na colonização dos tecidos internos das plantas. Em troca, as plantas fornecem aos microrganismos carbono, aminoácidos e metabólitos secundários, como flavonoides específicos, que podem influenciar a composição e a atividade microbiana (Berg et al., 2014).

A rizosfera, a zona do solo em torno das raízes, é onde ocorrem as interações mais intensas entre plantas e microrganismos (Bhattacharyya; Jha, 2012). Esse ambiente é ideal para microrganismos multifuncionais, devido à abundância de exsudatos radiculares liberados pelas plantas, que alimentam e suportam o crescimento microbiano (Rout, 2014). As interações entre microrganismos e plantas na rizosfera podem ocorrer de várias maneiras: microrganismos de vida livre no solo rizosférico, microrganismos associados à superfície das raízes (rizoplano) ou microrganismos que vivem dentro dos tecidos das raízes, seja nos espaços intercelulares ou intracelulares, conhecidos como endofíticos (Santoyo et al., 2016).

As bactérias que colonizam as raízes são conhecidas como rizobactérias. Quando são benéficas para as plantas e vivem livremente no solo, são chamadas de RPCP (Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas) ou PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) (Kokalis-Burelle et al., 2006). Segundo Gray e Smith (2005), com relação às bactérias que se localizam na rizosfera, essas ocupam cerca de 7 a 15% da superfície total das raízes. Calcula-se que existam aproximadamente

30.000 espécies de bactérias, sendo que apenas 8% destas foram identificadas (Barea et al., 2005).

Kloepper e Schroth (1978) introduziram o conceito de rizobactéria para descrever bactérias que mantêm uma associação próxima com as raízes das plantas. Essas bactérias podem colonizar a rizosfera (zona ao redor das raízes), o rizoplane (superfície das raízes) ou até mesmo o interior das raízes (endosfera). Inicialmente, o termo foi cunhado para distinguir essas bactérias das que são encontradas em áreas distantes das raízes.

Segundo Brandão (1992), as bactérias do solo constituem os microrganismos mais abundantes e diversos entre as espécies. A comunidade microbiana é estimada em cerca de  $10^8$  a  $10^9$  por gramas de solo. Com tamanho reduzido, algumas bactérias não possuem motilidade, enquanto outras são dotadas de flagelo, o que lhes permite movimentação. Determinadas bactérias, como as do gênero *Bacillus* sp., têm a capacidade de formar endósporos, estruturas de resistência que surgem em condições desfavoráveis do meio (Cardoso et al., 1992). Dentre os grupos mais pesquisados e com grande potencial de aplicação na agricultura, destacam-se as Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs), microrganismos que colonizam as raízes e a rizosfera (Zago et al., 2000).

Gray e Smith (2005) propuseram novos conceitos para classificar as RPCP:

- iPGPR: Bactérias que residem dentro das células das plantas, formando nódulos especializados na fixação de nitrogênio em leguminosas. As espécies do gênero *Rhizobium* são as mais estudadas deste grupo, mas também incluem outros gêneros bacterianos presentes no solo, como *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* e *Allorhizobium*.

- ePGPR: Bactérias que se desenvolvem extracelularmente nos tecidos das raízes de diversas plantas, sem formar nódulos, mas promovendo o crescimento vegetal através da produção de sinais ou substâncias específicas. Nesta categoria, incluem-se bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Burkholderia*.

A ação das Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP) pode ocorrer de maneira direta ou indireta. Diretamente, elas produzem compostos que atuam como reguladores vegetais fixam nitrogênio, sintetizam sideróforos, solubilizam fósforo e aceleram os processos de mineralização (Persello-Cartieaux et al., 2003). Indiretamente, as rizobactérias promovem a indução de resistência sistêmica nas plantas, aumentam a tolerância a estresses abióticos devido à

produção de etileno endógeno, produzem antibióticos e antagonizam fitopatógenos, entre outros efeitos (Oliveira et al., 2003).

### **3.3 Solubilização de fósforo pelas bactérias**

O fósforo (P) é um elemento essencial e insubstituível em todas as células vivas, sejam vegetais ou animais. As plantas absorvem grandes quantidades desse nutriente da solução do solo na forma de íons ortofosfato, principalmente  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ . No entanto, a concentração de fósforo no solo é geralmente muito baixa, tipicamente em torno de  $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , dependendo da classe do solo (Roberts; Johnston, 2015).

É um dos nutrientes mais limitantes para o crescimento das plantas, e sua deficiência pode causar atraso no desenvolvimento, além de interferir nos processos de fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão celular e crescimento das células vegetais (Hammond; White, 2008).

O fósforo nos solos está presente em formas orgânicas (Po) e inorgânicas (Pi), que se diferenciam pelo grau de estabilidade ou solubilidade e, conseqüentemente, pela disponibilidade para absorção pelas plantas. O Pi pode estar em solução (P-solução), precipitado com alumínio (Al), ferro (Fe) e cálcio (Ca), ou adsorvido aos óxidos de Fe e Al na fração argila, todos em equilíbrio com a solução e compondo a fração lábil de fósforo no solo (P lábil). A fração não lábil é composta por fósforo em compostos de baixa solubilidade (P mineralogicamente estável) ou adsorvido às partículas do solo, não estando essas formas em equilíbrio imediato com o P em solução (Novais; Smyth, 1999).

Segundo Rengel e Marschner (2005), o P é um nutriente limitante para o crescimento das plantas, pois, apesar de o P total da maioria dos solos serem relativamente elevado, o P disponível para as plantas é muito baixo, principalmente em solos tropicais intemperizados. O fósforo inorgânico (Pi) é predominantemente encontrado em complexos minerais insolúveis e precipitados. A matéria orgânica, por sua vez, constitui entre 20% e 80% do fósforo orgânico (Po) presente nos solos (Richardson, 1994). As principais reações de fixação de íons fosfato nos solos são a sorção de fosfato nas superfícies dos minerais de argila e, a precipitação de fosfato por íons livres de  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$  no solo (Havlin et al., 1999).

De acordo com Zhou et al. (1992), de modo geral, apenas 0,1% do fósforo total presente no solo está em uma forma solúvel, sendo prontamente disponível

para a absorção imediata pelas plantas. Portanto, a suplementação de fósforo é necessária na maioria dos solos agrícolas, realizada através da adição de fertilizantes químicos sintéticos. Entretanto, estima-se que uma grande parte do fósforo aplicado ao solo, e não absorvido pelas culturas (mais de 70%), permanece no solo em formas que não estão disponíveis para as plantas (Pavinato et al., 2020).

Em condições tropicais, a precipitação e a fixação de fósforo são as principais causas da baixa eficiência dos fertilizantes fosfatados solúveis, podendo até 80% do fertilizante ser complexado com íons de ferro, alumínio e cálcio presentes no solo, o que reduz sua absorção pelas raízes (Novais et al., 2007). Dessa forma, o uso de microrganismos que têm a capacidade de solubilizar fósforo inorgânico e mineralizar fósforo orgânico, tornando-o disponível para as plantas, é uma estratégia importante para melhorar a eficiência do aproveitamento desse nutriente no solo (Oliveira et al., 2009).

Os microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) desempenham um papel crucial nas principais etapas do ciclo do fósforo (P) no solo, incluindo processos como dissolução-precipitação, mineralização-imobilização e sorção-dessorção, promovendo assim o crescimento das plantas. De maneira geral, os mecanismos utilizados por esses microrganismos transformam fósforo inorgânico (Pi) e fósforo orgânico (Po) insolúveis em formas solúveis de P, regulando a ciclagem biogeoquímica do fósforo em agroecossistemas (Penn; Camberato, 2019).

Os compostos insolúveis de fósforo no solo podem ser solubilizados por ácidos orgânicos, fosfatases e agentes quelantes produzidos tanto por plantas quanto por microrganismos. Bactérias solubilizadoras de fosfato (BSP) e espécies de fungos têm a capacidade de aumentar a solubilização desses compostos fosfatados insolúveis (Son et al., 2006). Segundo Chen et al. (2006), dentro da população microbiana do solo, as bactérias solubilizadoras de fosfato (BSP) geralmente representam entre 1% e 50%, enquanto os fungos solubilizadores de fosfato (FSP) correspondem a cerca de 0,1% a 0,5% da população total. Destacam-se as bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* e *Burkholderia*, além dos fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (Kalayu, 2019).

Segundo Garg et al. (2001), entre os gêneros bacterianos que são conhecidos por esta capacidade, estão as *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Azotobacter* e *Erwinia*. As bactérias frequentemente solubilizam o fósforo mineral (inorgânico) por meio da síntese de ácidos

orgânicos de baixo peso molecular, como o ácido glucônico e o ácido cítrico (Rodriguez et al., 2004). Essas bactérias solubilizadoras de fosfato transformam formas inorgânicas de fosfato, como  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{FePO}_4$  e  $\text{AlPO}_4$ , através da produção de ácidos orgânicos, sideróforos e hidroxilas. O fosfato se liga aos grupos hidroxila e carboxila quelantes, liberando cátions que causam a acidificação do solo, resultando na liberação de fosfato solúvel (Kpombrekou; Tabatabai, 1994).

### **3.4 Solubilização de Zinco pelas bactérias**

O zinco é um elemento essencial para o desenvolvimento das plantas uma vez que atua como ativador de várias enzimas do metabolismo vegetal. Nos solos tropicais apresenta-se pouco disponível para as plantas devido ao processo de adsorção do zinco no solo (Dechen; Nachtigall, 2007).

Segundo Tripathi et al. (2015), nas plantas, o zinco desempenha um papel crucial na regulação nutricional, crescimento reprodutivo, síntese de clorofila, produção de carboidratos e no desenvolvimento de frutos e sementes. Ele atua como cofator regulador de uma ampla gama de enzimas e proteínas, principalmente relacionadas ao metabolismo de carboidratos, fotossíntese, conversão de açúcares em amido, metabolismo proteico, metabolismo de auxinas (reguladores de crescimento), formação de pólen, manutenção da integridade das membranas biológicas e resistência a infecções (Alloway, 2008). Além disso, o zinco controla a produção de reguladores de crescimento essenciais que influenciam tanto o crescimento quanto o desenvolvimento das plantas e está envolvido em processos de multiplicação e crescimento celular (Yamada, 1996).

O conteúdo total de zinco no solo depende do material de origem. Normalmente, a concentração de zinco nos solos varia de 10 a 300 mg kg<sup>-1</sup>, com um teor médio de 50 mg kg<sup>-1</sup> (Mousavi, 2011). Solos derivados de rochas ígneas básicas tendem a ser mais ricos em Zn em comparação com aqueles originados de rochas sedimentares (Abreu et al., 2007).

O Zn possui um alto efeito residual em solos muito intemperizados, ligando-se preferencialmente a fração argila. Aliado ao seu alto poder residual, o Zn tem uma alta afinidade pela matéria orgânica (Silveira, 2002).

No Brasil, estudos indicam que a deficiência de zinco é mais acentuada na região do Cerrado (Marques et al., 2004), sendo o Zn sendo consistentemente o micronutriente mais limitante para o desenvolvimento das pastagens nessa área (Vendrame et al., 2007).

Segundo Inocêncio (2012), a dinâmica do zinco no solo é bastante complexa, com uma baixa taxa de perda por lixiviação devido à sua alta afinidade pelos colóides minerais do solo.

A disponibilidade de zinco nos solos e sua absorção pelas plantas são influenciadas por diversos fatores, como pH, textura (teores de argila), matéria orgânica (Saffari et al., 2009), óxidos de ferro, alumínio e manganês, salinidade, capacidade de troca de cátions (CTC), umidade e temperatura do solo, material parental, quantidade de óxidos de Fe e hidróxidos no solo, interação com outros nutrientes, formação de micorrizas e práticas de manejo (Chatzistathis, 2014). Embora as concentrações totais de Zn nos solos brasileiros sejam altas, apenas uma pequena fração está biodisponível (Valladares et al., 2009).

De acordo com Cakmak (2008), a deficiência global de zinco (Zn) nas culturas não se deve à escassez total desse micronutriente, mas à sua baixa solubilidade nos solos. Para remediar essa deficiência, geralmente são aplicados fertilizantes químicos, que podem causar impactos ambientais negativos. Uma alternativa sustentável é o uso de microrganismos do solo com capacidade de solubilizar Zn. Diversas bactérias, como *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. e *Burkholderia cenocepacia*, têm sido identificadas por converter formas insolúveis de Zn em formas solúveis, aumentando a disponibilidade e absorção pelas plantas (Khande et al., 2017). Essas bactérias solubilizadoras de Zn operam por meio de mecanismos como acidificação, produção de sideróforos e sistemas oxirredutivos nas membranas celulares (Saravanan et al., 2011). Elas produzem ácidos orgânicos no solo que sequestram os cátions de zinco e quelatam o zinco, aumentando sua solubilidade (Jones; Darrah, 1994).

### **3.5 Produção de amilase**

O amido é um polissacarídeo de reserva amplamente encontrado em plantas, servindo como uma fonte essencial de energia tanto para plantas quanto para microrganismos do solo. Sua degradação e solubilização são processos críticos que

influenciam a saúde do solo e a eficiência do uso de nutrientes. No contexto das bactérias promotoras de crescimento (BPC), a solubilização do amido desempenha um papel fundamental na promoção do crescimento das plantas e na sustentabilidade agrícola (Khan et al., 2009).

O amido é composto por dois polímeros de glicose: amilose e amilopectina. A amilose é uma cadeia linear de unidades de  $\alpha$ -D-glicose unidas por ligações  $\alpha$ -1,4-glicosídicas, enquanto a amilopectina é uma estrutura ramificada com ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6-glicosídicas. Esta estrutura permite ao amido atuar como uma eficiente reserva de energia, mobilizada quando necessário para processos metabólicos em plantas e microrganismos (Tester et al., 2004).

Bactérias do solo que degradam o amido desempenham um papel crucial no ciclo do carbono, decompondo o amido em açúcares mais simples que podem ser facilmente assimilados por plantas e outros microrganismos. Enzimas como a amilase catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas, liberando moléculas de glicose e maltose. Este processo não apenas facilita a disponibilidade de carboidratos, mas também enriquece a matéria orgânica do solo (Gupta et al., 2003).

Segundo Khan et al. (2009), as interações entre plantas e bactérias que degradam o amido são benéficas para ambas as partes. As plantas fornecem exsudatos radiculares ricos em amido e outros polissacarídeos, que servem como fonte de nutrientes para as bactérias. Em troca, as bactérias promovem a saúde das plantas ao liberar açúcares simples, melhorar a estrutura do solo e aumentar a disponibilidade de nutrientes. Essa relação simbiótica é essencial para a manutenção de um ecossistema agrícola equilibrado.

A degradação do amido por BPC contribui significativamente para a melhoria da qualidade do solo. O aumento da matéria orgânica do solo, resultante da decomposição do amido, melhora a capacidade de retenção de água, a aeração e a fertilidade geral do solo. Estudos demonstram que a presença de BPC pode levar a um aumento na biomassa das plantas e no rendimento das culturas, devido à melhor disponibilidade de nutrientes (Vessey, 2003).

Segundo Bashan et al. (2014), a pesquisa sobre bactérias que degradam o amido tem potencial para o desenvolvimento de biofertilizantes inovadores. Tais biofertilizantes podem reduzir a dependência de fertilizantes químicos, promovendo práticas agrícolas mais sustentáveis. O uso de biofertilizantes baseados em BPC

pode resultar em um ciclo de nutrientes mais eficientes, menor impacto ambiental e custos reduzidos para os agricultores.

As bactérias promotoras de crescimento (BPC) são capazes de degradar amido através de vários mecanismos enzimáticos. Esses mecanismos são fundamentais para a degradação do amido em formas mais simples de açúcares, que são mais facilmente absorvidas pelas plantas. Os principais mecanismos incluem:

- Produção de amilases: as amilases são enzimas que catalisam a hidrólise do amido em açúcares mais simples, como a maltose e a glicose. As bactérias do solo, como as pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*, produzem amilases extracelulares que degradam o amido em dextrinas e açúcares solúveis (Gupta et al., 2003).
- Hidrólise enzimática: a hidrólise enzimática do amido envolve a quebra das ligações glicosídicas. As enzimas amilolíticas incluem  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase, glucoamilase e pullulanase. Cada uma dessas enzimas atua em diferentes pontos das moléculas de amido, facilitando sua completa degradação (Tester et al., 2004).
- Despolimerização e fermentação: além da hidrólise, algumas bactérias podem fermentar os produtos da degradação do amido, produzindo ácidos orgânicos que ajudam na solubilização de outros nutrientes no solo. Este processo é crucial para a mobilização de fósforo, potássio e outros micronutrientes que estão frequentemente associados a complexos orgânicos no solo (Penn; Camberato, 2019).
- Interação com outros microrganismos: as BPC frequentemente interagem com fungos micorrízicos e outras bactérias, criando um ambiente mais favorável para a degradação do amido e a disponibilização de nutrientes. Essas interações sinérgicas são essenciais para a eficiência dos processos biogeoquímicos no solo (Walker et al., 2003).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Caracterização da área experimental**

O ensaio foi realizado nas instalações do laboratório AGROLAB, especializado na análise de sementes e situado na Avenida do Povo, esquina com VMS Qd. 35 Lt. 1, Villa Multirão II, em Goiânia, Goiás.

### **4.2 Análise estatística**

O experimento foi conduzido utilizando um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 10 tratamentos e 3 repetições para cada meio de cultura (Fósforo, Zinco e Amido). As médias obtidas foram submetidas à análise estatística utilizando o teste de Scott-Knott, com um nível de significância de 5%.

### **4.3 Tratamentos**

Foram utilizadas 10 isolados bacterianos AGL1, AGL2, AGL4, AGL9, AGL14, AGL17, AGL21, AGL22, AGL24 e AGL26, da coleção de microrganismos benéficos do laboratório AGROLAB. Antes da condução dos ensaios, os isolados bacterianos foram cultivados em meio de caldo nutriente ( $8\text{gL}^{-1}$ ) por 24 horas a  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### **4.4 Preparo do Caldo Nutriente**

O Caldo Nutriente foi preparado com os seguintes componentes: cloreto de sódio (5,0 g), peptona (10,0 g), extrato de carne (3,0 g) e água destilada (1 L). Para o preparo, foram inicialmente adicionados aproximadamente 250 mL de água destilada em um frasco de vidro de 1000 mL. Os reagentes foram adicionados na ordem descrita acima, agitando-se bem entre cada adição. O volume foi então completado até 1000 mL com água destilada.

O meio preparado foi distribuído em 10 frascos Erlenmeyer de 125 mL cada, adicionando-se 75 mL do meio em cada frasco. Em seguida, os frascos foram vedados com algodão e papel alumínio. Após o vedamento, os frascos foram autoclavados a  $121^{\circ}\text{C}$  por 40 minutos.

Após o resfriamento, os frascos Erlenmeyer foram transferidos para a câmara de fluxo laminar, onde as 10 bactérias foram inoculadas no meio utilizando micropipetas com um volume de 100  $\mu$ L. Após a inoculação, os frascos foram colocados em uma mesa de agitação constante a 150 rpm, conforme mostrado nas Figuras 1, 2 e 3. O volume total de cada uma das 10 suspensões bacterianas foi então utilizado para formar os 3 meios específicos: 1) Fósforo, 2) Zinco e 3) Amilase.

**Figura 1.** Meio Nutriente no Erlenmeyer e autoclave.



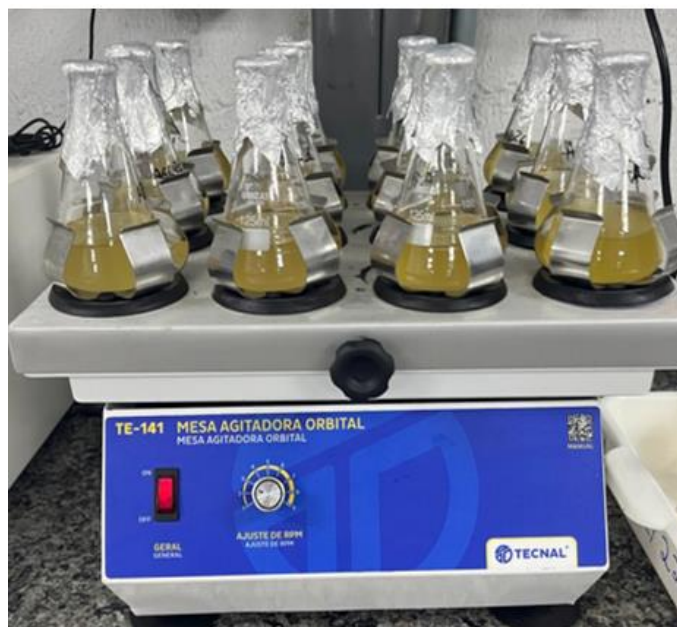
Fonte: a autora, 2024.

**Figura 2.** Micropipeta de 100ul microlitros e Erlenmeyer dentro da câmara de fluxo-multiplicação bactérias.



Fonte: a autora, 2024.

**Figura 3.** Mesa de agitação constante de 150 rpm.



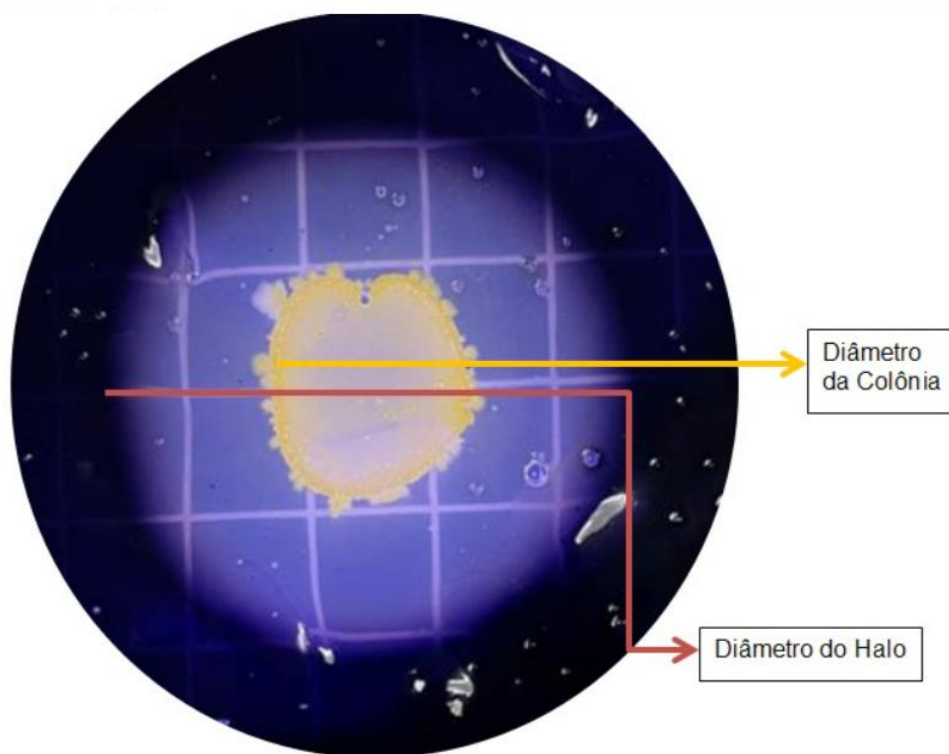
**Fonte:** a autora, 2024.

#### 4.5 Meios de cultura

Os meios de Fósforo, Zinco e Amilase foram preparados utilizando um pHmetro para avaliar o pH da água, para o preparo de cada meio a seguir será mencionado qual o pH ideal. Após a preparação, os meios foram autoclavados e todas as placas foram inundadas com uma solução de iodo a 1% e iodeto de potássio a 2%, para avaliar o diâmetro do halo (DH) e o diâmetro da colônia (DC).

Para determinar o Índice de Solubilização (IS), foi observada a presença ou ausência de um halo ao redor das colônias bacterianas. O halo se forma devido à capacidade das bactérias em realizar a solubilização do fósforo e do zinco presente no meio de cultura, e da degradação da amilase. O diâmetro do halo (DH), que representa a área clara ao redor da colônia, e o diâmetro da própria colônia (DC) foram medidos para quantificar essas atividades (Figura 4). O Índice de Solubilização (IS) foi calculado utilizando a seguinte equação: Índice de Solubilização = Diâmetro do halo/Diâmetro da colônia. Este índice é utilizado para determinar o grau de solubilização pelas bactérias, proporcionando uma medida quantitativa da eficiência desse processo biológico.

**Figura 4.** Diâmetro da colônia e diâmetro do halo, utilizados para calcular o Índice de Solubilização (IS).



**Fonte:** a autora, 2024.

#### 4.5.1 Produção de solubilizadores (colorimétrico e quantitativo)

##### 4.5.1.1 Fósforo (colorimétrico e quantitativo)

Para o preparo do meio, adicionou-se fosfato insolúvel ao meio de cultura da seguinte maneira: Foram preparadas duas soluções, uma de  $K_2HPO_4$  a 10% em 100 mL, e outra de  $CaCl_2$  a 10% em 50 mL, as quais foram autoclavadas separadamente (Figura 5). Essas soluções foram então adicionadas a 850 mL do meio de cultivo NBRIP (glicose (10g)),  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  (5g),  $MgSO_4$  (0,25g), KCl (0,2g),  $(NH_4)_2SO_4$  (0,1g), ágar (15g), água destilada (1L), pH 7,0 dos reagentes (Sylvester-Bradley et al., 1982). Após a preparação, o meio foi vertido em placas de Petri.

Foi transferido 10 uL (108UFC/mL), de cada isolado bacteriano (tratamentos) para as placas de Petri. Em seguida, as mesmas, foram incubadas a 28 °C. Após 7 dias, a atividade de solubilização do fosfato foi determinada pela presença ou ausência de halo ao redor das colônias.

**Figura 5.** Soluções de  $K_2HPO_4$  (fosfato de potássio) e  $CaCl_2$  (cloreto de cálcio) .



**Fonte:** a autora, 2024.

#### 4.5.1.2 Zinco (colorimétrico e quantitativo)

Para o preparo do meio de cultura, foi utilizado  $10g\ L^{-1}$  de glicose: 2g,  $K_2HPO_4$  (fosfato de potássio dibásico): 0- Peptona: 1,5g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (sulfato de magnésio): 0,2g, extrato de levedura: 2g, ácido glutâmico: 1,5g, ZnO (óxido de zinco): 1,2g, Ágar: 15g em água destilada: 1L, e em seguida ajustou-se o pH para 6,0 (Berraquero et. al., 1976). Após a preparação, o meio foi vertido em placas de Petri.

Foi transferido 10 uL (108UFC/mL) de cada isolado bacteriano (tratamento) para as placas de Petri. Em seguida, as mesmas, foram incubadas a  $28\ ^\circ C$  por 7 dias. A solubilização do Zn foi determinada pela presença ou ausência de halo ao redor das colônias.

#### 4.5.2 Produção de Enzimas Extracelulares (Colorimétricos)

##### 4.5.2.1 Amilase

Utilizou-se meio de cultura Glucose Yeast Extract Peptone Agar (GYP) contendo glicose (1g), extrato de levedura (0,1g), peptona (0,5g), ágar (16g) e água destilada (1L), com um pH de 6,0. O meio foi suplementado com 0,2% de amido solúvel. Após a preparação, o meio foi vertido em placas de Petri (Figura 6).

Foi transferido 10 uL (108UFC/mL) de cada isolado bacteriano (tratamento) para as placas de Petri. Em seguida, as mesmas, foram incubadas a 28 °C por 5 dias (Figura 7).

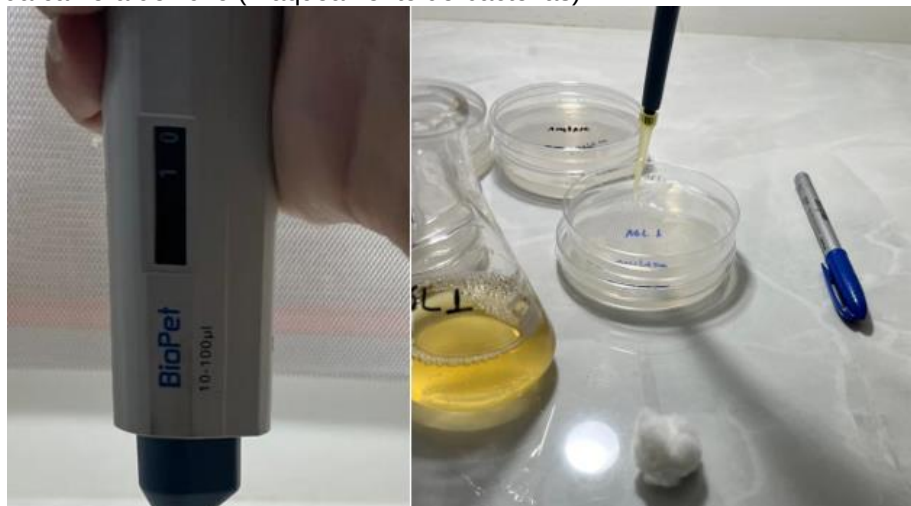
Em seguida, as placas foram inundadas com uma solução de iodo a 1% e iodeto de potássio a 2% e deixadas em repouso por uma hora. A atividade da amilase foi determinada pela presença ou ausência de halos ao redor das colônias, conforme descrito por Hankin e Anagnostakis (1975) e Sunitha et al.(2013),(Figura 8).

**Figura 6.** Vertendo o meio em placas de Petri, dentro da câmara de fluxo.



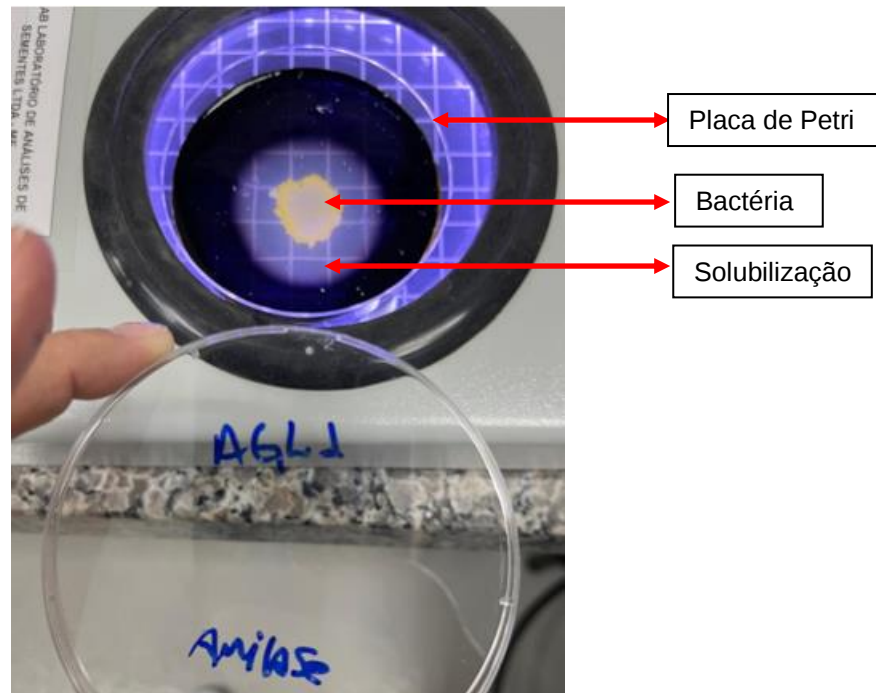
**Fonte:** a autora, 2024.

**Figura 7.** Micropipeta regulada para 10ul microlitros e placas de Petri dentro da câmara de fluxo (Plaqueamento de bactérias).



**Fonte:** a autora, 2024.

**Figura 8.** Placa com solução de iodo a 1% em iodeto de potássio a 2%.



Fonte: a autora, 2024.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os vários métodos estatísticos da literatura, a análise de variância (ANOVA) tornou-se uma das mais importantes na análise de experimentos, informando ao pesquisador quando existe ou não diferença estatisticamente significativa entre seus diversos tratamentos. Entretanto, na maioria dos casos, tal informação não é suficiente para determinar uma tomada de decisão, sendo necessária uma maior investigação sobre quais tratamentos ou quais grupos de tratamentos diferem entre si. Surgindo, assim, diversas análises de comparações múltiplas, dentre elas, o método de aglomeração de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974), que sofre uma limitação importante: só pode ser aplicado em tratamentos balanceados.

### 5.1 Fósforo

Os isolados AGL 2 e AGL 14 se destacaram por apresentarem os maiores índices de solubilização de fósforo. O isolado AGL 14 apresentou índice de

solubilização de fósforo significativamente superior a todos os demais isolados enquanto AGL 26 não apresentou nenhuma atividade de solubilização (Tabela 1).

Isso sugere que essas cepas podem ser particularmente úteis em ambientes onde a solubilização eficiente de fósforo é crucial para melhorar a disponibilidade desse nutriente para as plantas (Khan et al., 2007).

De acordo com os índices de solubilização, os isolados AGL 1 e AGL 26 podem ser classificados como estirpes de baixa solubilização ( $IS < 2$ ), os isolados AGL 21, AGL 17, AGL 22, AGL 4, AGL 24 e AGL 9, média solubilização ( $2 \leq IS \leq 4$ ) e AGL 2 e AGL 14, alta solubilização ( $IS > 4$ ) (Berraquero et al., 1976), (Tabela 1).

A variação nos índices de solubilização entre os isolados pode ser atribuída a diferenças na capacidade de produção de ácidos orgânicos e outras substâncias que facilitam a solubilização de fosfatos insolúveis (Rodríguez; Fraga, 1999).

O meio de cultura utilizado contém fonte insolúvel de P que na presença de cloreto de cálcio e substâncias liberadas pelos microrganismos, como ácidos orgânicos e enzimas no meio circundante, sofre processo de solubilização que é evidenciado pela formação de um halo translúcido ao redor das colônias que apresentam capacidade solubilizadora (Souhie et al., 2005), (Figura9).

A capacidade de microrganismos em solubilizar fosfato está diretamente relacionada à produção de ácidos orgânicos, os quais desempenham um papel crucial na quebra das ligações químicas que retêm o nutriente (Silva Filho; Vidor, 2000). Estudos indicam que a fonte de carbono utilizada pode influenciar significativamente a produção desses ácidos e, conseqüentemente, a eficácia do processo de solubilização (Barroso; Nahas, 2008).

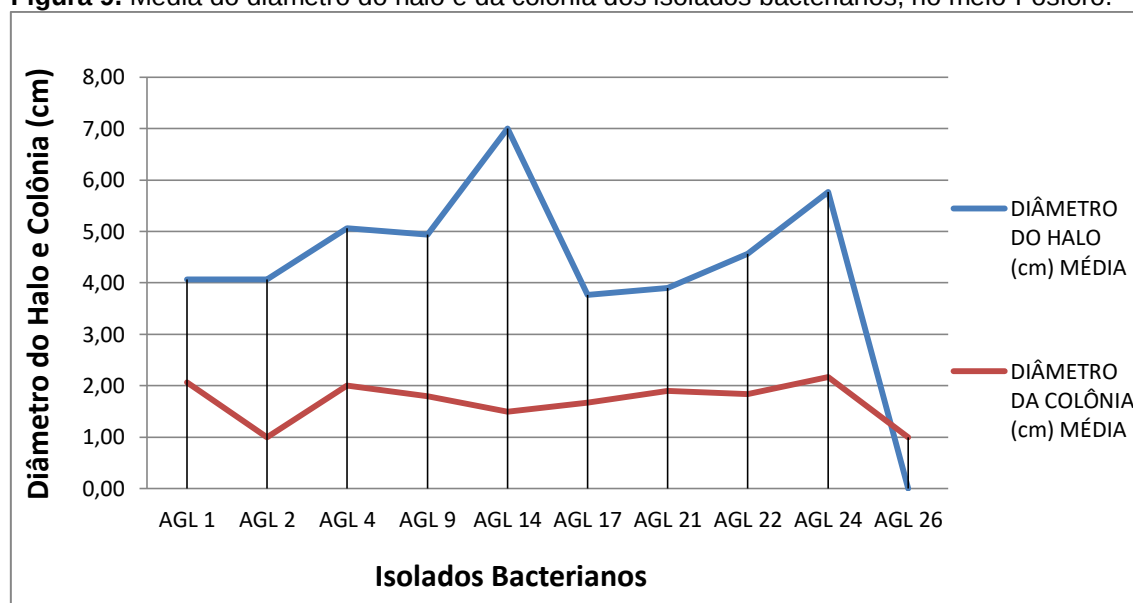
Esses resultados fornecem uma base para a seleção de isolados bacterianos eficientes para uso em biofertilizantes, contribuindo para a melhoria da disponibilidade de fósforo em solos agrícolas. No entanto, é essencial conduzir pesquisas direcionadas para selecionar microrganismos adaptados às condições específicas de cultivo, a fim de maximizar a eficiência da solubilização de fósforo no contexto agrícola (Moreira; Siqueira, 2006).

**Tabela 1.** Média do Índice de solubilização de fósforo dos isolados bacterianos. Teste de Scott-Knot a 5% de significância. Goiânia, Goiás, 2024.

| ISOLADOS BACTERIANOS | ÍNDICE DE SOLUBILIZAÇÃO |
|----------------------|-------------------------|
| AGL 26               | 0,00 A                  |
| AGL 1                | 1,97 B                  |
| AGL 21               | 2,05 B                  |
| AGL 17               | 2,29 B                  |
| AGL 22               | 2,50 C                  |
| AGL 4                | 2,60 C                  |
| AGL 24               | 2,64 C                  |
| AGL 9                | 2,74 C                  |
| AGL 2                | 4,06 D                  |
| AGL 14               | 4,67 E                  |

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não se diferem entre si. C.V. - (%) = 10.67 / Média geral: 2.55/ Número de observações: 30.

**Figura 9.** Média do diâmetro do halo e da colônia dos isolados bacterianos, no meio Fósforo.



Fonte: a autora, 2024.

As bactérias AGL2 e AGL14 podem ser recomendadas para a utilização da cultura do milho, pois Coelho (2006) diz que as doses recomendadas de fósforo são geralmente altas, devido à baixa eficiência de aproveitamento desse nutriente pela cultura, que varia entre 20% e 30%. Isso ocorre pela alta capacidade de fixação do fósforo no solo através de mecanismos de adsorção e precipitação, reduzindo sua disponibilidade para as plantas. Culturas de rápido crescimento e ciclo curto, como o milho, exigem níveis mais elevados de fósforo em solução e uma reposição mais rápida do fósforo adsorvido (Coelho, 2006).

## 5.2 Zinco

A análise dos índices de solubilização de zinco dos isolados bacterianos revelou uma ampla variação em suas capacidades, conforme apresentado na Tabela 2. Os diâmetros médios de halo de solubilização de zinco para AGL 2, AGL 9 e AGL 4 foram de 6,17 cm, 7,17 cm e 7,50 cm, respectivamente. Estes valores destacam a capacidade dessas cepas em formar zonas claras ao redor das colônias, indicativas de atividade solubilizadora de zinco (Sunithakumari; Haldavanekar, 2016), (Figura 10).

Os isolados AGL 26 e AGL 21 podem ser classificados como estirpes de baixa solubilização ( $IS < 2$ ), os isolados AGL 1, AGL 24, AGL 17 e AGL 14, AGL 22, AGL 4 e AGL 9, média solubilização ( $2 \leq IS \leq 4$ ), e o isolado AGL 2, alta solubilização ( $IS > 4$ ) (Berraquero et al., 1976), (Tabela 2).

De acordo com Gyaneshwar et al. (2002), índices de solubilização acima de 4 são considerados elevados, indicando uma eficiência notável na capacidade de solubilizar nutrientes essenciais.

A capacidade observada em AGL 2, AGL 9 e AGL 4 pode ser atribuída à sua habilidade de produzir ácidos orgânicos, como ácido cítrico e ácido oxálico, que são conhecidos por sua capacidade de solubilizar compostos de zinco insolúveis (Gandhi; Muralidharan, 2016).

Essa habilidade é particularmente relevante para a agricultura, onde a disponibilidade de zinco pode limitar o crescimento das plantas, especialmente em solos pobres neste micronutriente (Hussain et al., 2015).

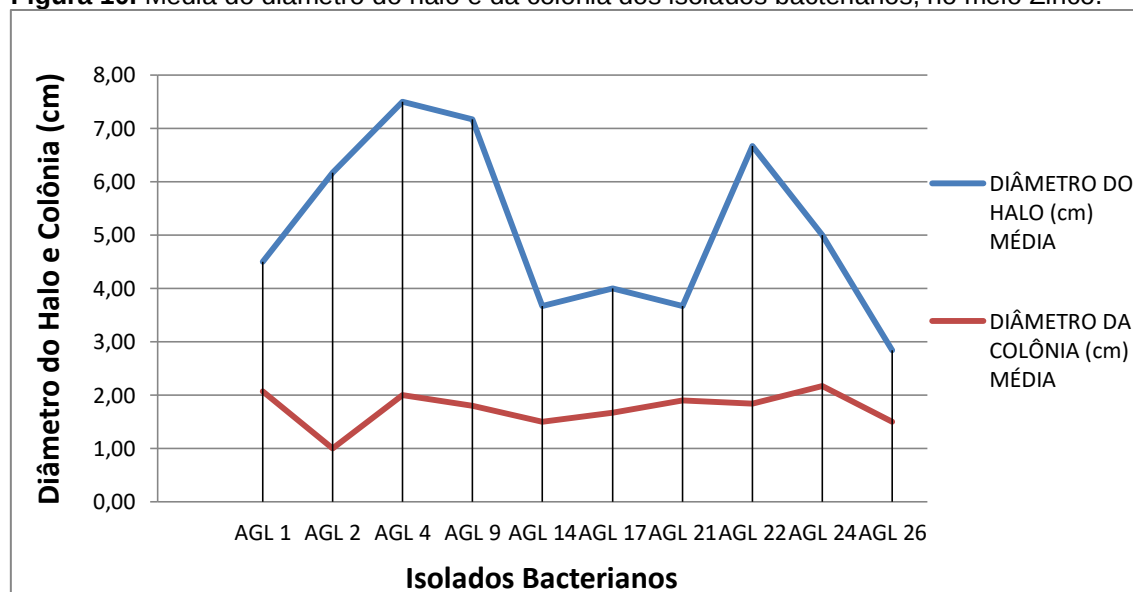
Segundo Desai et al. (2012), a solubilização de zinco por microorganismos pode ocorrer através de vários mecanismos, como a produção de ácidos orgânicos (por exemplo, ácido cítrico, ácido oxálico), que diminuem o pH do meio e facilitam a liberação de zinco a partir de compostos insolúveis.

**Tabela 2.** Média do Índice de solubilização de zinco dos isolados bacterianos. Teste de Scott-Knot a 5% de significância. Goiânia, Goiás, 2024.

| ISOLADOS BACTERIANOS | ÍNDICE DE SOLUBILIZAÇÃO |
|----------------------|-------------------------|
| AGL 26               | 1,89 A                  |
| AGL 21               | 1,93 A                  |
| AGL 1                | 2,18 A                  |
| AGL 24               | 2,28 A                  |
| AGL 17               | 2,42 A                  |
| AGL 14               | 2,44 A                  |
| AGL 22               | 3,68 B                  |
| AGL 4                | 3,80 B                  |
| AGL 9                | 3,98 B                  |
| AGL 2                | 6,16 C                  |

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não se diferem entre si. C.V. - (%) = 11.85 / Média geral: 2.80/ Número de observações: 30.

**Figura 10.** Média do diâmetro do halo e da colônia dos isolados bacterianos, no meio Zinco.



Fonte: a autora, 2024.

A bactéria AGL2 pode ser indicada para o cultivo de arroz e milho. Segundo Crusciol (2005), no Brasil, um terço do arroz produzido é cultivado em sistema de terras altas, com a maior parte concentrada no Cerrado. Os solos dessa região são frequentemente submetidos a preparos e correções de pH, o que pode limitar a disponibilidade de alguns micronutrientes, incluindo o zinco (Zn) (Crusciol et al., 2005).

O zinco também é um micronutriente mais limitante para a produção de milho, com sua deficiência sendo muito comum na região central do país, onde predominam os solos sob vegetação de cerrado (Coelho, 2006).

### 5.3 Amilase

Os dados obtidos da atividade de amilase revelam uma variação significativa entre os isolados bacterianos testados. A atividade de amilase, medida pelo diâmetro do halo de degradação ao redor das colônias, é indicativa da capacidade das cepas em hidrolisar o amido presente no meio de cultura.

Os diâmetros médios de halo de solubilização de amido para AGL 2, AGL 4, AGL 9, AGL 22 e AGL 1 variaram de 6,33 cm a 6,83 cm, destacando-se pela ampla área de degradação ao redor das colônias (Dey et al., 2017), (Figura 11).

AGL 2 e AGL 4 apresentaram os maiores índices de solubilização de amido, com valores de 2,60 e 2,53 respectivamente, seguidos por AGL 9, AGL 22, AGL 1, AGL 21 e AGL 17, com índices variando de 2,01 a 2,27. Esses resultados sugerem que essas cepas possuem uma significativa capacidade de produzir amilase, o que pode ser benéfico em aplicações biotecnológicas, como na indústria de alimentos e na produção de biocombustíveis (Souza; Magalhães, 2010), (Tabela3).

A utilização de bactérias produtoras de amilase na agricultura é uma área promissora de biotecnologia agrícola. Estas bactérias têm a capacidade de produzir a enzima amilase, que degrada o amido em açúcares simples. Segundo Bhattacharyya e Jha (2012), as bactérias produtoras de amilase ajudam na decomposição da matéria orgânica presente no solo, convertendo amidos complexos em açúcares simples que podem ser mais facilmente absorvidos pelas plantas.

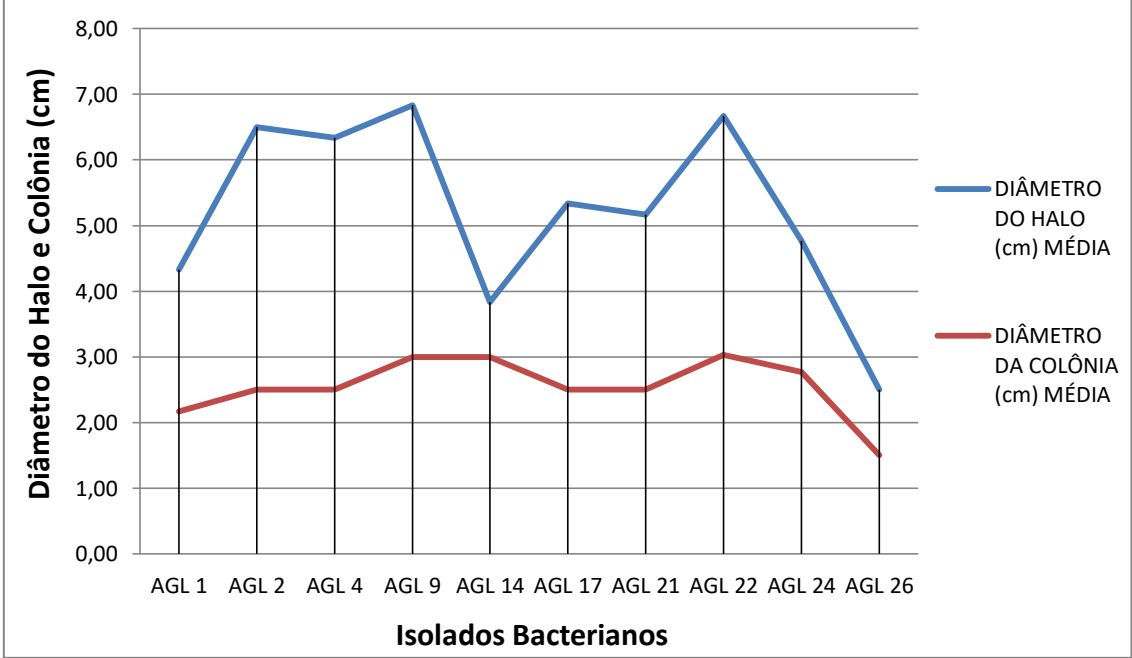
As bactérias produtoras de amilase podem ser incluídas em formulações de biofertilizantes, que são aplicados ao solo ou às sementes para promover um melhor crescimento das plantas e melhorar a produtividade das culturas (Naveed et al., 2014).

**Tabela 3.** Média do Índice de solubilização de amido dos isolados bacterianos. Teste de Scott-Knot a 5% de significância. Goiânia, Goiás, 2024.

| ISOLADOS BACTERIANOS | ÍNDICE DE SOLUBILIZAÇÃO |
|----------------------|-------------------------|
| AGL 14               | 1,22 A                  |
| AGL 26               | 1,67 B                  |
| AGL 24               | 1,72 B                  |
| AGL 1                | 2,01 C                  |
| AGL 21               | 2,02 C                  |
| AGL 17               | 2,05 C                  |
| AGL 22               | 2,21 C                  |
| AGL 9                | 2,27 C                  |
| AGL 4                | 2,53 D                  |
| AGL 2                | 2,60 D                  |

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não se diferem entre si. C.V. - (%) = 9.30 / Média geral: 1.85/ Número de observações: 30.

**Figura 11.** Média do diâmetro do halo e da colônia dos isolados bacterianos, no meio Amilase.



Fonte: a autora, 2024.

6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo destacam os isolados AGL 2, AGL 14, AGL 9 e AGL 4 como promissores devido à sua alta capacidade de solubilização de fósforo, zinco e produção de amilase, essenciais para o crescimento vegetal. Estas cepas demonstraram potencial para aplicações futuras em biofertilizantes e biotecnologia agrícola, ressaltando a importância de pesquisas contínuas para otimizar sua eficiência e adaptabilidade às condições específicas de cultivo, (Figura 12).

**Figura 12.** Isolados AGL 2, AGL 14, AGL 9 e AGL 4.

| Isolado | Solubilização de Fósforo | Solubilização de Zinco | Produção de Amilase |
|---------|--------------------------|------------------------|---------------------|
| AGL 2   | Alto                     | Alto                   | Alto                |
| AGL 14  | Alto                     | Médio                  | Baixo               |
| AGL 9   | Médio                    | Alto                   | Médio               |
| AGL 4   | Médio                    | Alto                   | Alto                |

**Fonte:** a autora, 2024.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABHILASH, P. C. C.; DUBEY, R. K.; TRIPATHI, V.; GUPTA, V. K.; SINGH, H. B. Plant Growth-Promoting Microorganisms for Environmental Sustainability. **Trends in Biotechnology**, 34 (11), 847-850. 2016.
- ABREU, C. A.; LOPES, A. S.; SANTOS, G. C. G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, SBCS, p.645-736. 2007.
- ALLOWAY, B. J. **Zinc in soils and crop nutrition**. IFA, Paris, 2008.
- BAREA, J. M.; POZO, M. J.; AZCO'N, R.; AZCON'NAGUILAR, C. Microbial cooperation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 1761-1778, 2005.
- BARROSO, C. B; NAHAS, E. (2008); Solubilização do fosfato de ferro em meio de cultura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43 (4), 529-535.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J. P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil**, 378(1-2), 1-33. 2014.
- BERG, G.; MAHNERT, A.; MOISSEL-EICHINGER, C. Beneficial effects of plant-associated microbes on indoor microbiomes and human health? **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 15, 2014.
- BERRAQUERO, F.R.; BAYA, A.M.; CORMENZANA, A.R. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **Ars Pharmaceutica**, v.17, p.399-406, 1976.
- BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 28 (4), 1327-1350. 2012.
- BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. (Eds.). **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992,p.1-15.
- CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification. **Plant and Soil**, vol. 302, no. 1-2, pp. 1-17. 2008.
- CARDOSO, E. J. B. N.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Campinas. 360p. 1992.
- CASTIGLIONI, P.; WARNER, D.; BENSON, R. J.; ANSTROM, D. C.; HARRISON, J.; STOECKER, M.; ABAD, M.; KUMAR, G.; SALVADOR, S.; D'ORDINE, R.; NAVARRO, S.; BACK, S.; FERNANDES, M.; TARGOLLI, J.; DASGUPTA, S.; BONIN, C.;

LUETHY, M. H.; HEARD, J. Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 147, n. 2, p. 446-455, 2008.

COELHO, A. M. **Nutrição e Adubação do Milho**. Circular Técnica 78. ISSN 1679-1150 . Embrapa – Sete Lagoas, 2006.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R. Trichoderma na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, 4 (3), 97-102. 2017.

CHATZISTATHIS, T. Micronutrients Deficiency in Soils and Plants. Oak Park, Illinois: **Bentham Science Publishers**, 205 p. 2014.

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, n. 1, p. 33-41, 2006.

CHOUHAN, D. K.; JAISWAL, D. K.; GAURAV, A. K.; MUKHERJEE, A.; VERMA, J. P. PGPM as a potential bioinoculant for enhancing crop productivity under sustainable agriculture. In: RAKSHIT, A.; MEENA, V. S. M. P.; SINGH, H. B.; SINGH, A. K. (org). **Biofertilizers**, Woodhead Publishing, 221-237. 2021.

CRUSCIOL, C. A. C.; MAUAD, M.; ALVAREZ, R. de C. F.; LIMA, E. do V.; TIRITAN, C. S. Doses de fósforo e crescimento radicular de cultivares de arroz de terras altas. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.4, p.643- 649, 2005.

DECHEN, A. R.; NACHTIGALL, G. R. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. V. H.; BARROS, N. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do Solo. Viçosa**: SBCS/UFV, p. 92- 132. 2007.

DESAI, D. K.; NIGHOJKAR, S. M.; NAWANI, N. N. (2012). "Diversity of zinc-solubilizing bacteria in zinc-amended soils and their impact on growth and zinc content of maize." **Archives of Agronomy and Soil Science**, 58(6), 601-618.

DEY, T. B.; BANERJEE, R.; MAITI, M. K. (2017). Optimization of amylase production by *Bacillus* sp. isolated from soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, 48(1), 155-163. doi: 10.1016/j.bjm.2016.09.005.

GANDHI, D.; MURALIDHARAN, G. (2016). "Characterization of zinc-solubilizing *Bacillus* isolates and their potential to influence zinc assimilation in soybean seeds." **Journal of Basic Microbiology**, 56(11), 1311-1323.

GARG, S.K.; BHATNAGAR, A.; KALLA, A.; NARULA, N. In vitro fixation, phosphate solubilization, survival and nutrient release by *Azotobacter* strains in aquatic system. Bioresource Technology, **Fayetteville**, v. 80, p. 101-109, 2001.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 37, p. 395-412, 2005.

GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V. K.; CHAUHAN, B. Microbial  $\alpha$ -amylases: A biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, 38(11), 1599-1616. 2003.

GYANESHWAR, P.; NARESH KUMAR, G.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 245, p. 83-93, 2002.

HAMMOND, J. P.; WHITE, P. J. Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 1, p. 93-109, 2008.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycology**, v. 67, p. 597-607, 1975.

HAVLIN, J.; BEATON, J.; TISDALE, S. L.; NELSON, W. **Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management**. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999.

HUSSAIN, A.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z. A.; ASGHAR, M.; KHALID, A. (2015). "Comparison of efficiency of various zinc solubilizing bacterial isolates for promoting growth and nutrient uptake of maize." **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 15(1), 203-213.

INOCÊNCIO, M. F.; RESENDE, A. V.; FURTINI NETO, A. E.; VELOSO, M. P.; FERRAZ, F. M.; HICKMANN, C. Resposta da soja à adubação com zinco em solo com teores acima do nível crítico. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 47, n. 10, p. 1550-1554, Out. 2012.

JONES, D. L.; DARRAH, P. R., Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. **Plant and Soil**, vol. 166, no. 2, pp. 247-257. 1994.

KALAYU, G. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. International **Journal of Agronomy**, v. 2019, article ID 4917256, 2019.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A. (2007). Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture—A review. **Agronomy for Sustainable Development**, 27(1), 29-43.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A.; Oves, M. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. **Environ Chem Lett**, 7:1–19. 2009.

KHANDE, R.; SHARMA, S. K.; RAMESH, A.; SHARMA, M. P. Zinc solubilizing *Bacillus* strains that modulate growth, yield and zinc biofortification of soybean and wheat. **Rhizosphere**, vol. 4, pp. 126-138. 2017.

KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. N. **Plant growth promoting rhizobacteria on radishes**. In: Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie (Ed.), Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria: Comptes Rendus de la 4e Conference Internationale Sur Les Bacteries Phytopathogenes, Angers. GilbertClarey, Tours, p.879-882, 1978, p.879-882.

KOKALIS-BURELLE, N.; KLOEPPER, J. W.; REDDY, M. S. Plant growth promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous microorganisms. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 31, p. 91-100, 2006.

KPOMBLEKOU, A. K., TABATABAI, M. A. Effect of organic acids on release of phosphorus from phosphate rocks. **Soil Science**, 158, 442-453. 1994.

LOPES, M. J. S.; DIAS-FILHO, M. B.; GURGEL, E. S. C. Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 5 (606454), 1-13. 2021.

MARQUES, J. J. G. S. M.; SCHULZE, D. G.; CURTI, N.; MERTZMAN, S. A. Trace element geochemistry in Brazilian Cerrado soils. **Geoderma**, v.121, p.31-43, 2004.  
Moreira, F. M. S.; Siqueira, J. O. (2006). Microbiologia e bioquímica do solo. (2a ed.), Universidade Federal de Lavras 729 p.

MOUSAVI, S. R. Zinc in crop production and interaction with phosphorus. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 5(9): 1503-1509, 2011.

NAVEED, M.; MITTER, B.; REICHENAUER, T. G.; WIECZOREK, K.; SESSITSCH, A. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by Burkholderia phytofirmans PsJN and Enterobacter sp. FD17. **Environmental and Experimental Botany**, 2014.

NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.1017 p.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399p.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 40 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161). 2003.

OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R. S. M.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; SÁ, N. M. A. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian cerrado biome. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 1-6, 2009.

PAVINATO, P. S.; CHERUBIN, M. R.; SOLTANGHEIS, A.; ROCHA, G. C.; CHADWICK, D. R.; JONES, D. L. Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, article 15615, 2020.

PENN, C. J.; CAMBERATO, J. J. A critical review on soil chemical processes that control how soil pH affects phosphorus availability to plants. **Agriculture**, 9(6), 120. 2019.

PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 26, p. 189-199, 2003.

RENGEL, Z.; MARSCHNER, P. Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. **New Phytologist**, v. 168, n. 2, p. 305-312, 2005.

RICHARDSON, A. E. Soil microorganisms and phosphorus availability. In: PANKHURST, C. E.; DOUBEAND, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Eds.). **Soil biota: management in sustainable farming systems**. Victoria: CSIRO, 1994. p. 50-62.

ROBERTS, T. L.; JOHNSTON, A. E. Phosphorus use efficiency and management in agriculture. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 105, n. February, p. 275-281, 2015.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, 17(4-5), 319-339.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, 91, 552-555. 2004.

ROUT, M. E. The Plant Microbiome. *Advances in Botanical Research*. **Academic Press**, 69, 279-309. 2014.

SAFFARI, M.; YASREBI, J.; KARIMIAN, N.; SHAN XIAOQUAN SHAN XIAOQUAN. Evaluation of three sequential methods for fractionation of zinc in calcareous and acidic soils. **Research Journal of Biological Sciences**, Brisbane, v. 4, n. 7, p. 848-857, abr. 2009.

SANTOYO, G.; HAGELSIEB, G. M.; MOSQUEDA, M. C. O.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**. 183, 92-99. 2016.

SARAVANAN, V. S.; KUMAR, M. R.; SA, T. M. Microbial zinc solubilization and their role on plants. In: MAHESHWARI, D. K. ed. **Bacteria in agrobiolgy: plant nutrient management**. Berlin: Springer, pp. 47-63. 2011.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. **A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance**. Biometrics, vol. 30, no. 3, Set. 1974, p. 507–512. JSTOR, Disponível em: <[www.jstor.org/stable/2529204](http://www.jstor.org/stable/2529204)>. Acesso em: junho de 2024.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. (2000). Solubilização de fostatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 24 (1), 311-319.

SON, H.; PARK, G.; CHA, M.; HEO, M. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. **Bioresourch Technology**, v. 97, n. 2, p. 204-210, 2006.

SOUCHIE, E.L.; ÁZCON, R.; BAREA, J.M.; SAGGIN-JUNIOR, O.J.; SILVA, E.M.R. Solubilização de fosfatos em meio sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.11, p.1149-1152, 2005.

SOUZA, P. M.; MAGALHÃES, P. O. Application of microbial-amylase in industry.- a review. **Brazilian Journal of Microbiology** (2010) 41: 850-861 ISSN 1517-8382.

STEFFEN, G. P. K.; MALDANER, J.; MISSIO, E. L.; STEFFEN, R. B. **Trichoderma controla fitonematóides e aumenta produtividade da soja, Campos & Negócios**. 2008. Disponível: <https://revistacampoenegocios.com.br/trichoderma-controla-fitonematoides-e-aumenta-produtividade-da-soja/>. Acesso: junho de 2024.

SUNITHA, V. H.; DEVI, D. N.; SRINIVAS, C. Extracellular Enzymatic Activity of Endophytic Fungal Strains Isolated from Medicinal Plants. **Word Journal of Agricultural Sciences**, 2013.

SUNITHAKUMARI, S.; HALDAVANEKAR, P. C. (2016). "Solubilization of zinc from rock phosphate by chemical and bacterial methods." **Journal of Environmental Science and Health**, Part B, 51(11), 805-811.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M.M M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazônica** 12(1): 15-22. 1982.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; Qi, X. Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, 39(2), 151-165. 2004.

TRIPATHI, D. K.; SING, S.; SINGH, S.; MISHRA, S.; CHAUHAN, D. K.; DUBEY, N. K. Micronutrients and their diverse role in agricultural crops: advances and future prospective. **Acta Physiol Plant**, 37:139. 2015.

VALLADARES, G. S.; SANTOS, G. C. G.; ABREU, C. A.; CAMARGO, O. A.; FERRERO, J. P. Zinco total e disponível em amostras de perfis de solos do Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 4, p. 1105-1114, out. 2009.

VENDRAME, P. R. S.; BRITO, O. R.; QUANTIN, C.; BECQUER, T. Disponibilidade de cobre, ferro, manganês e zinco em solos sob pastagens na Região do Cerrado. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.42, n.6, p.859-864, jun. 2007.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, 255(2), 571-586. 2003.

WALKER, T. S.; BAIS, H. P.; GROTEWOLD, E.; VIVANCO, J. M. Root exudation and rhizosphere biology. **Plant Physiology**, 132(1), 44-51. 2003.

YAMADA, T. Zinco. É a lei – o zinco é exigido pelas culturas. POTAFOS. Arquivo do Agrônomo, nº 10. **Informações Agronômicas**, nº 73. Piracicaba, São Paulo. 1996. p.21-22.

ZAGO, V. C. P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N. G. **Pseudomonas spp. fluorescentes-bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 31 f. (Embrapa-CNPAB. Documento, 127). 2000.

ZHOU, K.; BINKLEY, D.; DOXTADER, K. G. A new method for estimating gross phosphorus mineralization and immobilization rates in soils. **Plant and Soil**, v. 147, p. 243-250, 1992.