

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA
AGR99006 - DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Daniela Ritiele Quadros Bald
00309038**

**“Bactérias promotoras de crescimento vegetal isoladas da rizosfera de butiazeiro
(*Butia odorata* (Barb.Rodr.) Noblick)”**

PORTO ALEGRE, novembro de 2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA

Bactérias promotoras de crescimento vegetal isoladas da rizosfera do butiazeiro (*Butia odorata* (Barb.Rodr.) Noblick)

Daniela Ritiele Quadros Bald
00309038

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Engenheira Agrônoma, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Supervisora de Campo do Estágio: Dr^a. Raquel Paz da Silva

Orientador Acadêmico do Estágio: Dr. Sergio Francisco Schwarz

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

Prof^a. Renata Pereira da Cruz – Depto. de Plantas de Lavoura (Coordenadora)

Prof. Alexandre de Mello Kessler – Depto. de Zootecnia

Prof. Clesio Gianello – Depto. de Solos

Prof. José Antônio Martinelli – Depto. de Fitossanidade

Prof^a. Lucia Brandão Franke – Depto. de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia

Prof. Sérgio Luiz Valente Tomasini – Depto. de Horticultura e Silvicultura

PORTO ALEGRE, novembro de 2023.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar capacidade de superar os desafios que vieram e os que estão por vir.

Aos meus pais, Sandra e Marcio, por sempre incentivarem e priorizarem os meus estudos, sendo responsáveis pelo que sou hoje e pelo que conquistei até aqui. Vocês tornaram tudo isso possível.

A minha irmã, Dara, que sempre acreditou no meu potencial e me encorajou a seguir os meus sonhos. Você sempre será a minha inspiração. Da mesma forma agradeço ao meu cunhado Charles, por todo o apoio e carinho prestado. Ao pequeno Joaquim, meu sobrinho, que com suas risadas transforma os momentos estressantes em algo leve e fácil de suportar.

Ao meu amado Carlos, namorado, companheiro e acima de tudo melhor amigo, que durante a elaboração deste documento esteve comigo, me apoiando no que fosse necessário. Obrigada por ser meu parceiro nesta jornada.

Aos amigos que fiz durante o período da graduação, em especial Bianca, Lucas, Thaís e Árlen. Entre conversas, risadas e até mesmo nos momentos angustiantes pré-prova, vocês marcaram a minha vida.

Agradeço ao Prof^o Sergio Francisco Schwarz, que aceitou me orientar neste trabalho, não medindo esforços para me auxiliar no que fosse preciso. Agradeço à Dr^a Raquel Paz, pela orientação, confiança e amizade construídas. Obrigada por me incentivar na elaboração deste projeto e por todo o auxílio prestado.

A Letícia Schönhofen Longoni, pela parceria, amizade e por toda a ajuda durante o planejamento e execução dos experimentos. Da mesma forma aos colegas do Laboratório de Microbiologia, Gian, Wagner, Lenita, Andressa e Nicole, sou muito grata a todos vocês.

Aos pesquisadores Gilson Schlindwein, Adilson Tonietto, Luciano Kayser Vargas e Anelise Beneduzi, que de alguma forma contribuíram para a execução deste projeto.

Aos meus antigos orientadores Luciane Passaglia, Evelise Bach e Igor Daniel, que despertaram em mim o interesse na área da Microbiologia Agrícola, obrigada por acreditarem no meu potencial.

Por fim, agradeço à Faculdade de Agronomia da UFRGS e seus componentes pela excelência de ensino. Orgulho de me formar Eng. Agrônoma em uma universidade pública e de qualidade.

RESUMO

O estágio curricular obrigatório foi realizado nas dependências do Laboratório de Microbiologia Agrícola (Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária – Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação) em Porto Alegre – RS, no período de 08/05/2023 a 24/10/2023. O principal objetivo foi isolar e selecionar bactérias oriundas da rizosfera de *Butia odorata* (Barb.Rodr.) Noblick para estudos relacionados à promoção de crescimento vegetal. Além disso, durante o período transcorrido, foi possível vivenciar a rotina laboratorial dos centros de pesquisa. Os experimentos associados à promoção de crescimento vegetal estavam focados em analisar a produção de ácido indol acético (AIA), sideróforos e ainda a capacidade de solubilização de K_2HPO_4 pelas bactérias isoladas. Os resultados obtidos foram promissores, indicando a possível aplicação dos isolados como inoculantes agrícolas. Contudo, são necessários mais estudos e aprofundamento da capacidade de promoção de crescimento vegetal dos isolados, além da sua caracterização a nível de espécie.

Palavras-chave: fosfato; sideróforos; inoculantes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1 – Etapas da coleta de solo rizosférico. A) Exemplar de planta adulta da espécie <i>B. odorata</i> no Centro de Pesquisa de Viamão – DDP/SEAPI. B) Amostra de solo rizosférico. C) Coleta da amostra de solo rizosférico na camada de 0-10 cm. D) Saco plástico contendo a amostra de solo coletada.	16
Figura 2 – Etapas do isolamento de bactérias rizosféricas. A) Pesagem de 10 g de solo coletado. B) Diluição das amostras de solo em 90 mL de solução salina 0,85%. C) Repicagem da diluição 10^{-1} em 9 mL de solução salina 0,85%, resultando na diluição 10^{-2}	17
Figura 3 – Meios de cultura NFB (esquerda) e LGI (direita) semissólidos. Observa-se uma fina película localizada próximo à superfície das soluções, confirmando que estes isolados são diazotróficos.....	18
Figura 4 – Etapas de seleção e inoculação dos isolados. A) Observação e seleção prévia. B) Inoculação dos isolados com o auxílio de palitos de madeira autoclavados. C) Isolados crescidos em meio de cultura King B após sete dias de incubação.....	19
Figura 5 – Etapas da coloração de Gram. A) Esfregaço do inóculo sobre a lâmina. B) Coloração da lâmina com Violeta de Genciana. C) Lavagem da lâmina com água destilada. D) Células bacterianas Gram-negativas com formato de bastonete, observadas em microscópio com aumento de 100x.....	20
Figura 6 – Etapas da avaliação da produção de ácido indol acético (AIA) por bactérias. A) Espectrofotômetro utilizado para padronização da densidade óptica dos isolados. B) Transferência da amostra para placa de Elisa. C) Placa de Elisa contendo as amostras das bactérias, nota-se que colorações rosadas indicam a produção de AIA.....	21
Figura 7 – Etapas da avaliação de produção de sideróforos. A) Espectrofotômetro utilizado para padronização da densidade óptica das bactérias. B) Placa de Elisa contendo as amostras dos isolados, nota-se que colorações amarelo-alaranjadas indicam a produção de sideróforos.....	22
Figura 8 – Demonstração da avaliação da solubilização de K_2HPO_4 . A) Medição do diâmetro do halo produzido com auxílio de régua. B) Isolados com resposta positiva à solubilização de K_2HPO_4	23
Gráfico 1 – Gráfico de análises de componentes principais das áreas A, B e C. Correlação entre as características químicas dos solos e a quantidade (%) de isolados que apresentaram características de promoção de crescimento vegetal.....	24

Tabela 1 - Produção de ácido indol acético (AIA) <i>in vitro</i> por bactérias obtidas da rizosfera de <i>Butia odorata</i> , em Viamão – RS.....	25
Tabela 2 - Índice de Solubilização (IS), classe de solubilização e quantidade (%) de isolados solubilizadores de K ₂ HPO ₄ obtidos em três áreas da rizosfera de <i>Butia odorata</i> , em Viamão - RS.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL – microlitro

µg – micrograma

AIA – Ácido indol acético

Ca₃(PO₄)₂ – Fosfato de potássio

CAS – Cromoazurol-S

DDPA – Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

Fe – Ferro

FEPAGRO – Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária

IPAGRO – Instituto de Pesquisas Agronômicas

IPRNR – Instituto de Pesquisas e Recursos Naturais Renováveis

IPVDF – Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor

IPZ – Instituto de Pesquisas Zootécnicas

IS – Índice de solubilização

K – Potássio

KB – King B

kg – kilograma

K₂HPO₄ – Fosfato de potássio dibásico

LGI – LG (Lipman) I (José Ivo Baldani)

M – molar

mg – miligrama

mL – mililitro

NFB – Novo Fábio Pedrosa

nm – nanômetro

OD – Densidade óptica

P – Fósforo

PGPB – Bactérias promotoras de crescimento vegetal

rpm – Rotações por minuto

SEAPI – Secretaria Estadual da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação

SNK – Student-Newman-Keuls

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	9
2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA - DEPARTAMENTO DE DIAGNÓSTICO E PESQUISA AGROPECUÁRIA (DDPA)	10
3. REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1 <i>Butia odorata</i>	11
3.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL.....	11
3.3 COLORAÇÃO DE GRAM.....	12
3.4 ÁCIDO INDOL ACÉTICO.....	13
3.5 SIDERÓFOROS.....	14
3.6 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO.....	14
4. ATIVIDADES REALIZADAS	15
4.1 COLETA DE SOLO RIZOSFÉRICO.....	15
4.2 COLETA DE SOLO PARA ANÁLISE QUÍMICA.....	16
4.3 ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS.....	16
4.3.1 Homogeneização e diluição das amostras.....	16
4.3.2 Repicagem.....	17
4.3.3 Seleção das colônias bacterianas.....	18
4.4 COLORAÇÃO DE GRAM.....	19
4.5 EXPERIMENTO DE PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO <i>in vitro</i>	20
4.6 EXPERIMENTO DE PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS.....	21
4.7 EXPERIMENTO DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO DE POTÁSSIO.....	22
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
REFERÊNCIAS	28
APÊNDICE A - Localização das áreas de coleta de solo, Centro de Pesquisas - Viamão/RS.....	34
APÊNDICE B - Análise química de solo das áreas A, B e C. Camada de 0-20 cm....	35

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Butia odorata* (Barb.Rodr.) Noblick é uma planta de ocorrência natural do sul do Brasil ao nordeste do Uruguai, presente em solos arenosos e afloramentos rochosos de planícies costeiras (MATTOS, 1977; WAECHTER, 1985). É caracterizado por apresentar estatura de 2 a 9 m, com estipe solitário e ereto, folhas pinadas de coloração verde-acinzentadas, possui bráctea peduncular lenhosa e lisa, seus frutos têm formatos ovoides a globosos, de coloração amarela a laranja-avermelhado (LORENZI, 2010). No Rio Grande do Sul, está presente ao longo da Lagoa dos Patos e Lagoa Mirim, com grande concentração nas cidades de Tapes, Barra do Ribeiro e Santa Vitória do Palmar (GEYMONAT; ROCHA, 2009; FIOR, 2011).

Entre as décadas de 30 e 70, os butiazais possuíam grande importância econômica no Rio Grande do Sul, principalmente pelo uso de suas folhas, que eram extraídas para produção de crina vegetal, destinadas à fabricação de colchões e peças de estofaria. Entretanto, a crina vegetal foi substituída gradativamente, após a adoção de fibras sintéticas derivadas de petróleo (BONDAR, 1964). Por ser uma espécie de difícil propagação (a germinação é extremamente lenta), as mudas são obtidas quase que exclusivamente por meio de extrativismo ilegal, em que até mesmo plantas com mais de 100 anos são retiradas do seu ambiente natural, sem critérios de manejo definidos (SCHWARTZ *et al.*, 2010; FIOR, 2011).

Atualmente, o butiazeiro vem sendo utilizado para diferentes atividades, desde alimentação humana e animal, artesanato e paisagismo (GEYMONAT; ROCHA, 2009; TONIETTO; SCHLINDWEIN; TONIETTO, 2009). O caráter ornamental e suas utilidades na agroindústria vêm despertando uma crescente demanda de estudos mais aprofundados de propagação, implantação e manejo, visando à correta condução do butiazal para fins de produção e conservação (TONIETTO; SCHLINDWEIN; TONIETTO, 2009).

Algumas bactérias apresentam uma grande variedade de efeitos positivos sobre o seu hospedeiro, tais como: a solubilização e mobilidade de minerais (como o fósforo e ferro), fixação biológica de nitrogênio, produção de fitorreguladores (auxinas, giberelinas e citocininas), e através desses mecanismos, a proteção contra o ataque de fitopatógenos. Assim, qualquer microrganismo que possua uma ou mais dessas características pode ser considerado como promotor de crescimento vegetal (GLICK, 2015; HAYAT *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2012).

No que diz respeito às bactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPB, do termo em inglês *Plant Growth Promoting Bacteria*) isoladas de espécies da Família Arecaceae, os estudos são escassos. Poucos trabalhos abordam sobre características de PGPB relacionadas ao butiazeiro, o que mostra a necessidade de ampliação da pesquisa com relação a esta espécie,

visto que podem auxiliar em reduzir o tempo de germinação das sementes e crescimento das mudas.

Desse modo, o presente trabalho visou investigar características relativas à promoção de crescimento vegetal por isolados bacterianos oriundos da rizosfera de *B. odorata*, a fim de explorar o seu potencial como inoculantes agrícolas. O estágio foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Agrícola (Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária) em Porto Alegre – RS, no período de 08/05/2023 a 24/10/2023 e teve como principais objetivos 1) Isolar e selecionar bactérias oriundas da rizosfera de *B. odorata*; e 2) Caracterizar bactérias quanto a aspectos relacionados à promoção de crescimento vegetal.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA - DEPARTAMENTO DE DIAGNÓSTICO E PESQUISA AGROPECUÁRIA (DDPA)

O Laboratório de Microbiologia Agrícola foi criado em 1944 a partir da junção de outros três laboratórios, sendo que teve seu início só em 1948 no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF) em Guaíba. Em 1962 foi criado o Instituto de Pesquisas Agrônomicas (IPAGRO) e o Instituto de Pesquisas Zootécnicas (IPZ), e após dez anos, o Instituto de Pesquisas e Recursos Naturais Renováveis (IPRNR). No ano de 1994 nasce a Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária – FEPAGRO a partir da união destes quatro Institutos – IPVDF, IPAGRO, IPZ e IPRNR. Porém, no ano de 2017 a FEPAGRO é extinta pela Lei N° 14.978/2017 e vinculada à Secretaria Estadual de Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI), sendo atualmente chamada de Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA), onde o Laboratório de Microbiologia Agrícola está inserido.

O Laboratório de Microbiologia Agrícola é referência na área de microbiologia agrícola e solos, sendo responsável por diversos estudos e trabalhos de relevância nessa e nas demais áreas do desenvolvimento agropecuário. No que diz respeito à produção científica, o Laboratório de Microbiologia Agrícola é responsável por dirigir diversos alunos de graduação à pesquisa, através da vivência com atividades científicas. Desde os anos 50 o laboratório conta com a participação de graduandos em projetos desenvolvidos, agregando na formação profissional dos alunos e futuros pesquisadores.¹

A equipe do laboratório é composta por profissionais de diferentes áreas. Entre os membros, encontram-se uma Eng. Agrônoma, responsável técnica, pesquisadora e Doutora em Fitotecnia – UFRGS, uma Bióloga, responsável técnica, pesquisadora e Doutora em Genética e Biologia

¹ Informação fornecida pelos componentes do Laboratório de Microbiologia Agrícola – Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária

Molecular – UFRGS, um Eng. Agrônomo, pesquisador e Doutor em Zootecnia – UFRGS, um Eng. Florestal, pesquisador e Doutor em Ciência do Solo – UFRGS, uma Bióloga, laboratorista e Mestre em Biologia Animal, uma Bióloga, laboratorista e Mestre em Fitotecnia – UFRGS, uma estagiária e três bolsistas de iniciação científica.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Butia odorata*

O butiazeiro (*Butia odorata*) (Barb.Rodr.) Noblick é uma das 266 espécies de palmeira que ocorrem no país (LEITMAN *et al.*, 2010). A espécie *B. odorata* tem ocorrência nas zonas da Planície Costeira desde o Estado do Rio Grande do Sul até Rocha, no Uruguai, áreas onde a espécie se encontra frequentemente associada a ambientes campestres, vinculados a fatores edáficos e ao manejo das pastagens (FIOR, 2011; WAECHTER, 1985). É comum encontrar no gênero a distribuição das plantas na forma de adensamentos extensos, que recebem o nome de palmares ou butiazais (MARCATO, 2004). Apesar de ser uma espécie heliófita (plantas que são adaptadas ao crescimento em ambiente aberto ou exposto à luz direta), o butiazeiro é frequentemente encontrado próximo a áreas de mata (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

A espécie *B. odorata* possui estipe solitário e ereto, podendo ser tortuoso e variando de 2 a 9 m, folhas pinadas verde-acinzentadas, brácteas pedunculares lenhosas e lisas, e os frutos são ovóides a depresso-globosos, de coloração amarela a laranja-avermelhados. Suas inflorescências são ramificadas no nível de primeira ordem, e são protegidas por uma bráctea peduncular. Seu florescimento se dá no período de outubro a dezembro, enquanto a frutificação ocorre de janeiro até abril (LORENZI *et al.*, 2010; BUTTOW, 2008).

3.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

Ao longo dos anos, inúmeras práticas vinculadas ao uso de insumos químicos na agricultura para o aumento da produção e produtividade agrícola prejudicam o meio ambiente, através da degradação e poluição do solo, da água e do ar, resultando na diminuição da biodiversidade animal e vegetal. Dessa forma, tornou-se imprescindível a adoção de novas tecnologias e estratégias sustentáveis para reduzir os estresses abióticos globais que ameaçam a agricultura, e ainda assim garantindo a ampla oferta de alimentos para a população. Limitações ao desenvolvimento pleno das plantas, causadas por estresses abióticos como temperaturas extremas, seca, salinidade, toxicidade de poluentes, estresses oxidativos, alta intensidade de luz, radiação UV e o uso de herbicidas são capazes de comprometer cerca de 50 a 82% do

rendimento agrícola bruto das lavouras nos últimos anos, caracterizando uma séria ameaça para a agricultura e a segurança alimentar global (GLICK, 2014).

Nesse sentido, buscando reduzir os impactos causados por estresses abióticos, a aplicação de estirpes benéficas de bactérias promotoras de crescimento vegetal, através do uso de inoculantes agrícolas em sementes, é considerada uma importante estratégia para reduzir o tempo de germinação e até melhorar características de desenvolvimento e crescimento em mudas. (LASTOCHKINA *et al.*, 2019; DIMKPA; WEINAND; ASCH, 2009)

As PGPB são capazes de se estabelecer no solo rizosférico como organismos de vida livre, assim como podem ser encontradas colonizando a superfície das raízes das plantas (rizoplano). Além disso, diversas bactérias rizosféricas também podem apresentar a capacidade de penetrar e colonizar endofiticamente as plantas, ou seja, habitam o seu interior, sem causar danos aparentes a seu hospedeiro (BULGARELLI *et al.*, 2013; VEJAN *et al.*, 2016; PODOLICH *et al.*, 2015; SANTOYO *et al.*, 2016).

As PGPB podem promover crescimento vegetal por mecanismos de atuação direta e indireta. Diretamente, as bactérias podem atuar na disponibilidade de nutrientes do solo (através da solubilização de nutrientes insolúveis e produção de sideróforos), fixação biológica de nitrogênio e ainda na produção e regulação dos níveis de hormônios vegetais (KAUR *et al.*, 2016; AHEMAD; KIBRET, 2014), enquanto os mecanismos indiretos são caracterizados pelo poder destes microrganismos de operarem na proteção vegetal contra fitopatógenos (biocontrole), além da redução de danos causados por estresses abióticos (DEY *et al.*, 2014; HASSEN *et al.*, 2016).

Essa interação benéfica entre plantas e bactérias resulta em uma tecnologia viável tanto ambiental quanto econômico, sendo utilizada no desenvolvimento de inoculantes agrícolas, compostos por linhagens de microrganismos, aditivos, substâncias carreadoras e protetoras, em diversas formulações e adaptadas a diferentes finalidades dentro da agricultura (BASHAN *et al.*, 2014; PREININGER *et al.*, 2018). As PGPB podem ser aplicadas como biofertilizantes, fitoestimulantes, agentes de biocontrole ou até mesmo como biorremediadoras, proporcionando ganhos em produção e produtividade com impactos reduzidos sobre o ambiente (BAEZ-ROGELIO *et al.*, 2017; ALORI; BABALOLA, 2018).

3.3 COLORAÇÃO DE GRAM

A coloração de Gram objetiva classificar as bactérias em Gram-positivas ou Gram-negativas. Elas possuem essa classificação devido ao método de coloração desenvolvido pelo microbiologista dinamarquês Hans Christian Joachin Gram (1853-1938). A coloração de Gram

é baseada nas características das células bacterianas. A parede celular das bactérias consideradas Gram-positivas possui ácido teicóico, além do peptidoglicano, que corresponde a uma fração maior do que a encontrada em bactérias classificadas como Gram-negativas. Conseqüentemente, a parede celular das bactérias Gram-positivas é mais espessa do que quando comparadas às Gram-negativas, o que influencia na coloração. Desse modo, bactérias Gram-positivas passam pelo método de coloração, e quando aplicada a solução de álcool-acetona, não perdem a coloração arroxeada de suas células, enquanto que o contrário ocorre nas bactérias consideradas Gram-negativas, que ficam com uma coloração rosa-avermelhada (MADIGAN *et al.*, 2004).

As bactérias Gram-positivas fazem parte do grupo menos estudado e explorado de bactérias associadas às plantas, quando comparadas ao grupo das bactérias Gram-negativas (EMMERT 1999; FRANCIS; HOLSTERS; VEREECKE, 2010). Isso se deve ao fato de que bactérias Gram-negativas são as mais encontradas com características relacionadas à promoção de crescimento vegetal, onde destacam-se os gêneros *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* e *Rhizobium* (BERG; MAHNERT; MOISSL-EICHINGER, 2014).

3.4 ÁCIDO INDOL ACÉTICO

Bactérias promotoras de crescimento também podem apresentar a capacidade de sintetizar ou regular os níveis de algumas das principais classes de hormônios vegetais, como giberelinas, auxinas, citocininas ou etileno. Porém, a sua maior caracterização está focada na produção de auxinas, principalmente o ácido indol-3-acético, o seu maior representante (SPAEPEN, 2015; EGAMBERDIEVA *et al.*, 2017).

O ácido indol acético (AIA) é um fitorregulador produzido por uma diversidade de bactérias. Esse composto participa de diversos processos fisiológicos, desde processos celulares básicos até grandes alterações morfológicas, sendo capaz de estimular e promover o desenvolvimento e crescimento das plantas, através do alongamento celular, divisão celular e diferenciação tecidual, aumentando a área de superfície das raízes (GOSWAMI, THAKKER; DHANDHUKIA, 2016; SAUER; ROBERT; KLEINE-VEHN, 2013). A capacidade de produção de AIA pelas bactérias influencia no balanço de auxinas nas plantas hospedeiras, favorecendo um maior alongamento radicular, o que está associado diretamente à captação de nutrientes, o que resulta na promoção de crescimento vegetal (SPAEPEN; VANDERLEYDEN, 2011).

Ao realizar-se experimentos de produção de AIA pelas bactérias, faz-se necessária a adição de triptofano ao meio de crescimento, pois este é reconhecido como o principal precursor das

vias de biossíntese de AIA em bactérias. Dessa forma, a sua presença pode favorecer a produção do fitorregulador (GOSWAMI, THAKKER; DHANDHUKIA, 2016; SPAEPEN; VANDERLEYDEN; REMANS, 2007).

3.5 SIDERÓFOROS

O ferro (Fe) é um elemento essencial para as plantas, atuando como cofator em uma série de processos fisiológicos importantes, como a respiração, fotossíntese e fixação de nitrogênio, sendo que sua deficiência resulta em uma sequência de alterações metabólicas graves. No ambiente aeróbico, o ferro é encontrado na forma de hidróxidos e óxidos de ferro, formas não assimiláveis pelas plantas, o que reduz a sua disponibilidade. Desse modo, diversos organismos (bactérias, fungos e plantas) são capazes de produzir sideróforos, metabólitos secundários e agentes quelantes de ferro que absorvem o nutriente no ambiente, tornando-o prontamente disponível. As bactérias que habitam a rizosfera produzem sideróforos, os quais são liberados para extrair o ferro das fases minerais, permitindo que ele se torne disponível para as plantas. Consequentemente, as plantas absorvem complexos solúveis de Fe^{3+} , que podem ser transportados ativamente para dentro do sistema vegetal (RAMAKRISHNA *et al.*, 2019)

Além disso, uma vantagem da produção de sideróforos por PGPB é que microrganismos fitopatogênicos não são capazes de absorver o complexo ferro-sideróforo, dessa forma, as PGPB podem promover, indiretamente, o crescimento vegetal (RAMAKRISHNA *et al.*, 2019; SHEN *et al.*, 2011). Atualmente, as PGPB têm seu uso empregado na produção de sideróforos também como controle para doenças de plantas, onde limitam o crescimento e colonização de microrganismos fitopatogênicos que dependem de ferro (TORSVIK; ØVREÅS, 2002.; PAYNE, 1994).

3.6 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO

O fósforo (P) é um dos macronutrientes mais importantes e necessários para os processos de fotossíntese, transdução de sinal, transferência de energia, biossíntese de macromoléculas e respiração. Mesmo que a quantidade encontrada de P no solo seja alta (variando entre 400 e 1.200 mg kg^{-1} de solo), a concentração de P solúvel (H_2PO_4^- e HPO_4^{2-}) nesse ambiente é, habitualmente, de apenas 1 mg kg^{-1} ou menos (GOLDSTEIN, 1994), o que significa que a maior parte deste elemento está presente no solo em formas insolúveis, seja em formas minerais (como apatita, hidroxiapatita e oxiapatita) ou orgânicas (como fosfato de inositol, fosfomonoésteres, fosfodiésteres e fosfotriésteres) (KHAN; ZAIDI; WANI, 2007). Em solos tropicais, esse nutriente se encontra em baixa disponibilidade, e assim grandes doses de

adubos fosfatados são aplicadas para que as culturas alcancem níveis adequados de produtividade (EIJK, 1997). Porém, a principal matéria prima para a produção de fertilizantes fosfatados são rochas fosfáticas, que se caracterizam como um recurso mineral limitado. Além disso, há o fator ambiental relacionado ao uso excessivo de fertilizantes fosfatados (COOPER *et al.*, 2011; REIJNDERS, 2014). A fertilização de fósforo no solo possui um baixo índice de aproveitamento, visto que cerca de 75-90% do fósforo introduzido no solo por adubação mineral é precipitado junto a íons de cálcio, ferro e alumínio, na forma de compostos altamente insolúveis (SINDHU *et al.*, 2014).

Assim, algumas PGPB possuem a capacidade de disponibilizar esse nutriente, através da solubilização de fosfatos, associada à liberação de compostos absorventes de minerais e liberação de enzimas extracelulares pela mineralização do fosfato. Os fosfatos inorgânicos presentes no solo, como por exemplo $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, são solubilizados pela produção de sideróforos e ácidos orgânicos pelas PGPB (SOUZA; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2015). Portanto, o seu uso tem sido explorado pelo seu poder de auxiliar no fornecimento de fósforo às plantas, onde atuam na mineralização do fósforo orgânico e solubilização de fosfato mineral, empregando uma importante ferramenta para a redução do uso de fertilizantes fosfatados na agricultura (OWEN *et al.*, 2015).

4. ATIVIDADES REALIZADAS

Neste tópico serão abordadas as atividades realizadas durante o período do estágio curricular obrigatório, sendo grande parte desenvolvida no Laboratório de Microbiologia Agrícola e dependências do Centro de Pesquisa de Viamão – DDP/SEAPI.

4.1 COLETA DE SOLO RIZOSFÉRICO

Para o isolamento das bactérias, foram feitas coletas de amostra de solo da rizosfera de plantas da espécie *B. odorata* (Figura 1A) oriundas do Centro de Pesquisa de Viamão – DDP/SEAPI, sendo adotadas três áreas distintas (Apêndice A): área A composta por plantas de ocorrência natural, com aproximadamente 30 anos, onde não há manejo; área B, composta por plantas de ocorrência natural, com aproximadamente 80 anos, onde há controle de plantas espontâneas por roçada; e área C, cultivada com mudas de butiazeiro em espaçamento de 3x4 m, atualmente com 15 anos, a área é manejada com aplicação de calcário, adubo orgânico e químico (NPK).

A adoção de três diferentes áreas objetivou coletar uma maior diversidade de bactérias, visto que são áreas com diferentes características e manejo. Dessa forma, futuramente, poderão ser feitas análises do DNA destes microrganismos a fim de caracterizá-los a nível de espécie.

A coleta foi realizada na camada de 0 – 10 cm da rizosfera das plantas (Figura 1B). Em cada área, foram coletadas cinco amostras de solo junto a cinco palmeiras, resultando em uma amostra por planta. As coletas foram realizadas com auxílio de pás e as amostras foram colocadas em sacos plásticos (Figuras 1C e 1D), identificadas com suas respectivas características, e logo procedeu-se às etapas seguintes de isolamento das bactérias.



Figura 1 - Etapas da coleta de solo rizosférico. A) Exemplar de planta adulta da espécie *B. odorata* no Centro de Pesquisa de Viamão – DDP/SEAPI. B) Amostra de solo rizosférico. C) Coleta da amostra de solo rizosférico na camada de 0-10 cm. D) Saco plástico contendo a amostra de solo coletada. Fonte: Autora (2023)

4.2 COLETA DE SOLO PARA ANÁLISE QUÍMICA

Além das coletas de amostra de solo para isolamento das bactérias, foram coletadas amostras de solo para análise química do mesmo (Apêndice B). Para isso, foram coletadas três amostras de solo na camada de 0 – 20 cm por área, seguindo orientação em zig-zag. As amostras foram coletadas com auxílio de cavadeira e pás, sendo que cada amostra foi colocada em sacos plásticos, identificadas com suas respectivas características e encaminhadas para análise no Laboratório de Solos (DDPA).

4.3 ISOLAMENTO DAS BACTÉRIAS

4.3.1 Homogeneização e diluição das amostras

Após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Agrícola, onde foi dada a sequência aos procedimentos. As cinco amostras de cada área foram misturadas e uma porção de 10 g desta mistura de solo (Figura 2A) foi separada e diluída em 90 mL de solução salina 0,85 % em um frasco Erlenmeyer (Figura 2B), sendo esta a primeira

diluição (10^{-1}), resultando em uma solução por área. Essas soluções permaneceram em agitação a 185 rpm, 23 °C (+/- 2 °C) por 24 h.

Após transcorridas as 24 h, deu-se sequência às séries de diluições. Da diluição 10^{-1} foi retirada uma alíquota de 1 mL e transferida para um tubo contendo 9 mL de solução salina 0,85 % (Figura 2C), resultando na diluição 10^{-2} , contabilizando uma solução por área. Em seguida, a diluição 10^{-2} foi homogeneizada e o mesmo procedimento foi realizado para obter a diluição 10^{-3} , somando três diluições por área.



Figura 2 - Etapas do isolamento de bactérias rizosféricas. A) Pesagem de 10 g de solo coletado. B) Diluição das amostras de solo em 90 mL de solução salina 0,85%. C) Diluição seriada em 9 mL de solução salina 0,85 %. Fonte: Autora (2023).

4.3.2 Repicagem

Obtidas as três diluições de cada área, uma alíquota de 100 μ L de cada diluição foi transferida para frascos previamente identificados (por área, meio utilizado e diluição) contendo 4 mL dos meios de cultura semissólidos NFB e LGI sem fonte de nitrogênio para selecionar apenas bactérias diazotróficas, ou seja, bactérias fixadoras de nitrogênio. A escolha de utilizar meios de cultura distintos se deve ao fato de que meios diferentes selecionam microrganismos diferentes, dessa forma, adotando-se o uso de NFB, seleciona-se espécies de bactérias que não apresentam crescimento em LGI, e assim mutuamente. O procedimento de transferência de uma alíquota das diluições para os frascos com meio de cultura foi feito em triplicata, totalizando 27 frascos com meio NFB e 27 frascos com meio LGI para as três áreas. Em seguida, estes frascos foram encaminhados à estufa, onde permaneceram por sete dias a 28°C para incubação.

Posterior ao período de incubação, a fim de obter a purificação final, foi realizada uma nova inoculação. A partir da formação de uma fina película (denominada de “véu”) no interior do caldo de cultivo (Figura 3), procedeu-se à repicagem, transferindo, com o auxílio de uma alça de platina, uma quantidade do material crescido para novos frascos previamente identificados (por área, meio utilizado e diluição) contendo 4 mL dos meios de cultura semissólidos NFB e LGI, totalizando mais 54 frascos. Em seguida, os frascos foram

encaminhados para a estufa e incubados sob as mesmas condições de temperatura, durante sete dias até que um novo véu fosse formado.

Por fim, após o período transcorrido, avaliou-se visualmente a formação do véu no interior do caldo de cultivo. A presença dessa película indica que os microrganismos isolados são diazotróficos. Tratam-se de microrganismos que possuem capacidade de ativar a enzima nitrogenase, através de características de aerotaxia que deslocam as bactérias para a região do meio de cultura onde a taxa de difusão de O_2 está em equilíbrio com a sua taxa de respiração. Desse modo, é nessa região que se formam as películas em forma de véu, inicialmente a 5-10 mm abaixo da superfície, movendo-se gradualmente para a superfície do meio de cultura (DÖBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995).

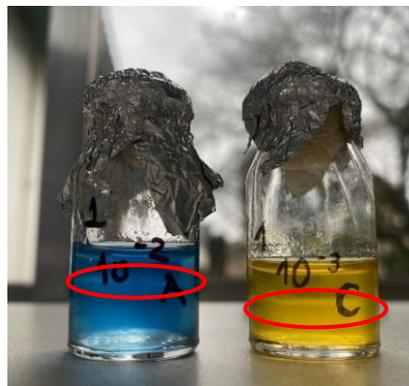


Figura 3 - Meios de cultura NFB (esquerda) e LGI (direita) semissólidos. Observa-se uma fina película localizada próximo à superfície das soluções, confirmando que estes isolados são diazotróficos. Fonte: Autora (2023).

4.3.3 Seleção das colônias bacterianas

Em seguida, procedeu-se à repicagem dos isolados para placas de Petri previamente identificadas (por área, meio utilizado e diluição) contendo os meios de cultura NFB e LGI sólidos (acrescidos de ágar). Nessa etapa, com o auxílio de uma alça de platina, foi coletado uma pequena amostra do véu no interior do caldo de cultivo e realizado o estriamento pelo método de esgotamento, a fim de isolar as colônias bacterianas e facilitar a seleção das mesmas. Foi realizada a repicagem de cada meio de cultura para sua respectiva placa (contendo o mesmo meio de cultura e diluição), sendo utilizadas três placas por meio de cultura, diluição e área, totalizando 54 placas. Finalizada a repicagem, as placas foram encaminhadas à estufa, onde permaneceram por sete dias a 28 °C.

Transcorridos os sete dias, foi dada sequência à seleção dos isolados. Foram selecionados 30 isolados por área, 15 oriundos do meio de cultura NFB e 15 oriundos do meio LGI, totalizando 90 isolados (Figura 4A). A identificação dos isolados seguiu uma sequência lógica e numérica, sendo os isolados da área A nomeados de 1 a 30 seguidos de “1”, da área B

nomeados de 1 a 30 seguidos de “2”, e área C nomeados de 1 a 30 seguidos de “3”. Selecionaram-se as colônias mais isoladas e puras no interior das placas, independente da diluição das soluções. Após selecionadas, as colônias foram repicadas com o auxílio de palitos de madeira autoclavados (Figura 4B) para tubos previamente identificados contendo 4 mL de meio de cultura King B (KB). Em seguida, esses tubos foram encaminhados para a estufa, onde permaneceram por três a quatro dias a 28 °C (Figura 4C).

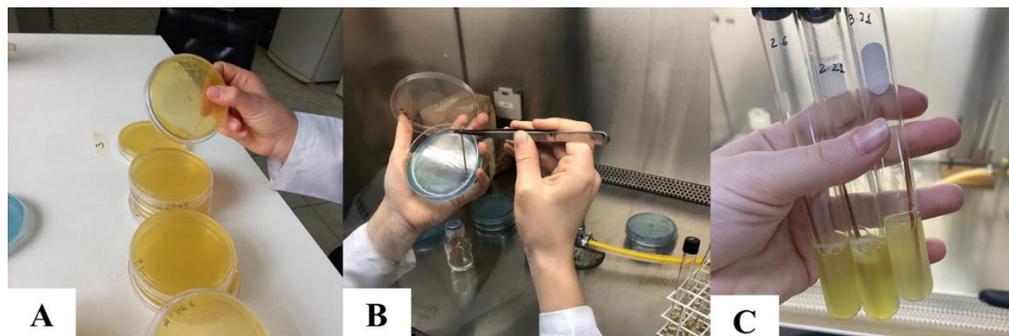


Figura 4 - Etapas de seleção e inoculação dos isolados. A) Observação e seleção prévia. B) Inoculação dos isolados com o auxílio de palitos de madeira autoclavados. C) Isolados inoculados em meio de cultura King B após sete dias de incubação. Fonte: Autora (2023).

4.4 COLORAÇÃO DE GRAM

A seguir, foi dado prosseguimento para as etapas de coloração de Gram. A coloração de Gram objetivou classificar as 90 bactérias de todas as áreas estudadas em Gram-positivas ou Gram-negativas, sendo que, para realizar os testes relacionados à promoção de crescimento vegetal, os isolados deveriam ser caracterizados como Gram-negativos. Para isso, em capela de fluxo laminar, coletou-se 10 µL do caldo de cultivo de cada isolado crescido em KB, pipetou-se em lâmina de vidro previamente identificada, e, em seguida, realizou-se o esfregaço (Figura 5A). Por fim, após as lâminas secarem naturalmente, as mesmas foram passadas rapidamente sobre o fogo, a fim de fixar as células bacterianas ali presentes. Após, as lâminas passaram pelo protocolo de coloração, onde permaneceram um minuto com Violeta de Genciana (Figura 5B), um minuto com Lugol, em seguida lavadas com Álcool-Acetona e lavadas com água destilada (Figura 5C), 20 segundos com Fucsina, e, por fim, realizada a última lavagem das lâminas com água destilada. As mesmas foram secas em estufa a aproximadamente 50 °C e, em microscópio óptico com aumento de 100x, utilizando óleo de imersão, observaram-se as células bacterianas. Foram avaliadas as características das células de formato de bastonete (bacilo) e coloração rosa, características típicas de bactérias Gram-negativas (Figura 5D). Além disso, também foi observada a possível existência de outros microrganismos indesejáveis nas lâminas analisadas. Dessa forma, os isolados que estavam contaminados por outros microrganismos (fungos,

bactérias Gram-positivas ou células de outros formatos) eram descartados e substituídos por novos isolados.

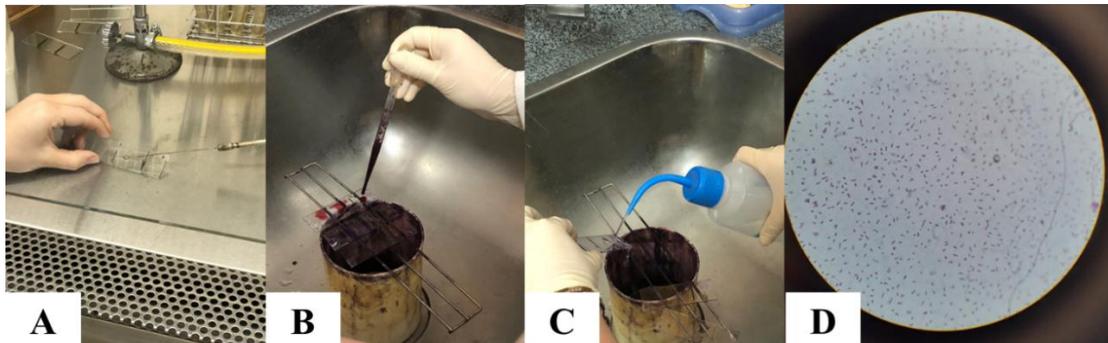


Figura 5 - Etapas da coloração de Gram. A) Esfregaço do inóculo sobre a lâmina. B) Coloração da lâmina com Violeta de Genciana. C) Lavagem da lâmina com água destilada. D) Células bacterianas Gram-negativas com formato de bastonete, observadas em microscópio com aumento de 100x. Fonte: Autora (2023).

4.5 EXPERIMENTO DE PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO *in vitro*

Depois de concluídas as etapas de isolamento, seleção e análise das células, realizaram-se os testes relacionados à promoção de crescimento vegetal. Estes testes, dentro dos parâmetros avaliados, visam identificar quais das bactérias se caracterizam como PGPB.

Para esse experimento, os isolados foram inoculados em tubos contendo 4 mL de meio de cultura KB acrescido de triptofano por sete dias a 28 °C. Após o período de incubação, os 90 isolados foram padronizados em densidade óptica (OD) de 0,5 em espectrofotômetro com absorvância de 600 nm (Figura 6A). Logo, foram coletados 1 mL do caldo de cultivo, pipetados em tubos Eppendorf e colocados sob centrifugação a 10.000 rpm por 10 min, a fim de separar a fração do sobrenadante do precipitado bacteriano. Com o sobrenadante resultante após a centrifugação, são pipetados 100 µL em triplicata nos poços de uma placa de Elisa (Figura 6B), pois é nesta fração que se encontra o AIA sintetizado pelas bactérias (GLICKMANN; DESSAUX, 1995; MATTIUZZI; VENDRUSCOLO; SANTOS, 2022). Em seguida, foram pipetados 100 µL do meio utilizado (KB + triptofano) nos poços A1 a A12, e após foram transferidos 100 µL da solução mãe de AIA (0,09 g ácido indol acético) no poço A1 para dar início à diluição seriada até o poço A11, sendo que o poço A12 é destinado a ser a amostra zero (somente o meio utilizado). Por fim, é adicionado 100 µL do reagente Salkowski em cada um dos poços. Esse procedimento é adotado para que a linha dos poços A1 a A12 seja a curva de calibração, posteriormente utilizada para a elaboração dos cálculos de quantificação de AIA produzido pelas bactérias. Por fim, a placa foi mantida no escuro por 30 min, e, após o período transcorrido, observou-se a presença ou ausência de coloração rosada das amostras, o que indica produção do composto (Figura 6C). Além disso, a placa foi encaminhada para um equipamento

leitor de microplacas em absorvância de 520 nm, a fim de obter os dados de produção de AIA por isolado e posteriormente realizar a interpretação dos dados obtidos com a construção da curva de calibração, através da elaboração de um gráfico de dispersão que resulta em uma equação e o R^2 ($> 0,90$). A interpretação dos dados obtidos foi realizada considerando a triplicata de cada amostra dos isolados, a fim de obter uma maior quantidade de dados amostrais.

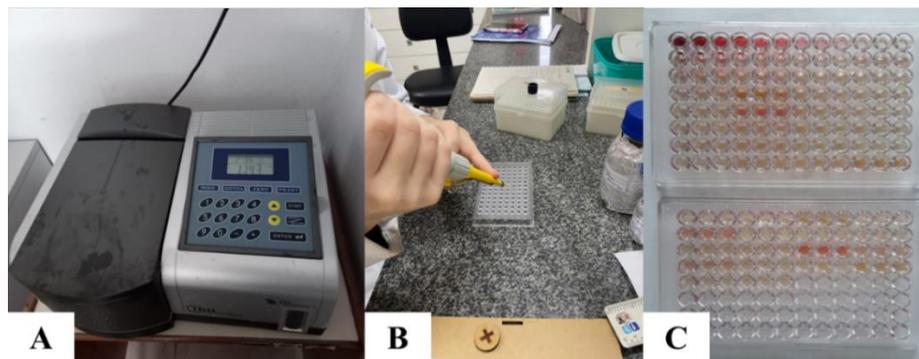


Figura 6 – Etapas da avaliação da produção de ácido indol acético (AIA) por bactérias. A) Espectrofotômetro utilizado para padronização da densidade óptica dos isolados. B) Transferência da amostra para placa de Elisa. C) Placa de Elisa contendo as amostras das bactérias, nota-se que colorações rosadas indicam a produção de AIA. Fonte: Autora (2023).

4.6 EXPERIMENTO DE PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS

Para o experimento, considerou-se a metodologia proposta por Schwyn e Neilands (1987). As bactérias foram inoculadas em tubos contendo 4 mL de meio de cultura KB cinco vezes diluído (para que não exista nenhum resíduo de Fe no meio) e mantidas por sete dias a 28 °C. Após o período de incubação, padronizaram-se as bactérias para OD de 0,5 em espectrofotômetro com absorvância de 600 nm (Figura 7A). Em seguida, coletou-se 1 mL do caldo de cultivo, pipetados em tubos Eppendorf e colocados sob centrifugação a 10.000 rpm por 3 min para separar a fração de sobrenadante da fração de precipitado bacteriano. Em uma placa de Elisa, pipetou-se 50 µL de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) 0,5 M como testemunha positiva no poço A1, enquanto para testemunha negativa utilizou-se 50 µL do meio de cultura (KB cinco vezes diluído). Na sequência, pipetou-se 50 µL em triplicata do sobrenadante das bactérias resultante da centrifugação e em seguida adicionou-se 50 µL do reagente Cromoazurol-S (CAS) sobre os poços. Por fim, a placa foi mantida por 1h no escuro, e em seguida procedeu-se à avaliação. A avaliação de produção de sideróforos é qualitativa, sendo analisada pela coloração da amostra. As colorações amarelo-alaranjadas são identificadas como positivas para produção de sideróforos, enquanto as colorações azuis-esverdeadas são identificadas como negativas para produção de sideróforos (Figura 7B).

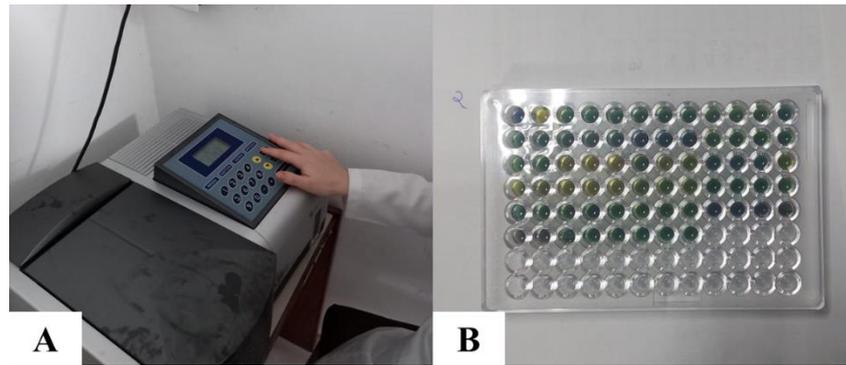


Figura 7 – Etapas da avaliação de produção de sideróforos. A) Espectrofotômetro utilizado para padronização da densidade óptica das bactérias. B) Placa de Elisa contendo as amostras dos isolados, nota-se que colorações amarelo-alaranjadas indicam a produção de sideróforos. Fonte: Autora (2023).

4.7 EXPERIMENTO DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO DE POTÁSSIO

Para este experimento, os isolados foram incubados por três dias a 28 °C em 4 mL de meio KB. A fonte de fosfato utilizada foi o fosfato de potássio (K), composto de K_2HPO_4 10%, $CaCl_2$ 10%, glicose, extrato de levedura e ágar. Em placas de Petri, inicialmente, os isolados foram inoculados em conjunto, onde foram pipetadas alíquotas de 10 μ L no meio de fosfato, resultando em cerca de seis isolados por placa (15 placas). Em seguida, as bactérias foram colocadas em estufa a 28°C durante três a sete dias, visto que bactérias atuam em períodos de tempo diferentes em relação à formação do halo. Em meio sólido, o halo formado indica a ocorrência de solubilização. Este halo é caracterizado por ser translúcido e permanecer no entorno da colônia bacteriana (BERRAQUERO; BAYA; CORMENZANA, 1976). Essa inoculação em conjunto objetivou avaliar quais dos isolados solubilizariam o meio, a fim de agilizar o processo para a próxima etapa. Dessa forma, durante o período de incubação, as bactérias foram classificadas quanto ao seu potencial como solubilizadoras, sendo selecionadas para a repetição do experimento.

Após os isolados serem selecionados quanto ao seu potencial como solubilizadores, os mesmos foram reinoculados em novas placas contendo o meio de fosfato de K em triplicata, onde foram pipetadas alíquotas de 10 μ L no centro da placa. Por fim, foram encaminhados à estufa, onde permaneceram por sete dias a 28 °C. Posteriormente, foram realizadas as medições de diâmetro de halo e colônia bacteriana com o auxílio de uma régua (Figura 8A e 8B). Essas medições foram utilizadas para a elaboração do Índice de Solubilização (IS), proposto por Berraquero, Baya e Cormenzana (1976), baseado na fórmula: $IS = \varphi \text{ Halo (mm)} / \varphi \text{ Colônia (mm)}$, indicando a capacidade dos isolados em solubilizar fosfato.

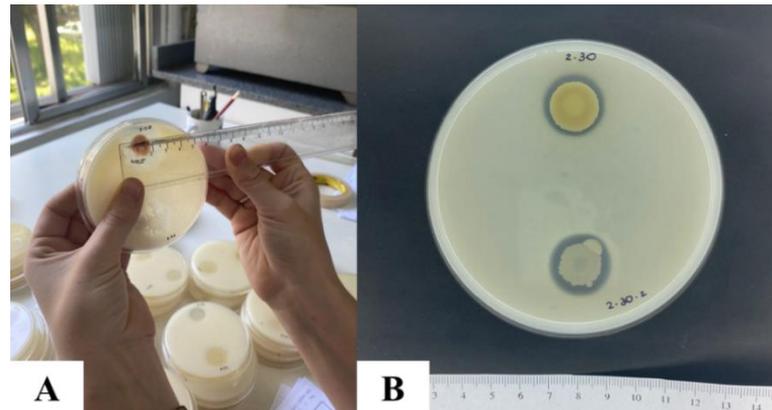


Figura 8 – Demonstração da avaliação da solubilização de K_2HPO_4 . A) Medição do diâmetro do halo produzido com auxílio de régua. B) Isolados com resposta positiva à solubilização de K_2HPO_4 . Fonte: Autora (2023).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

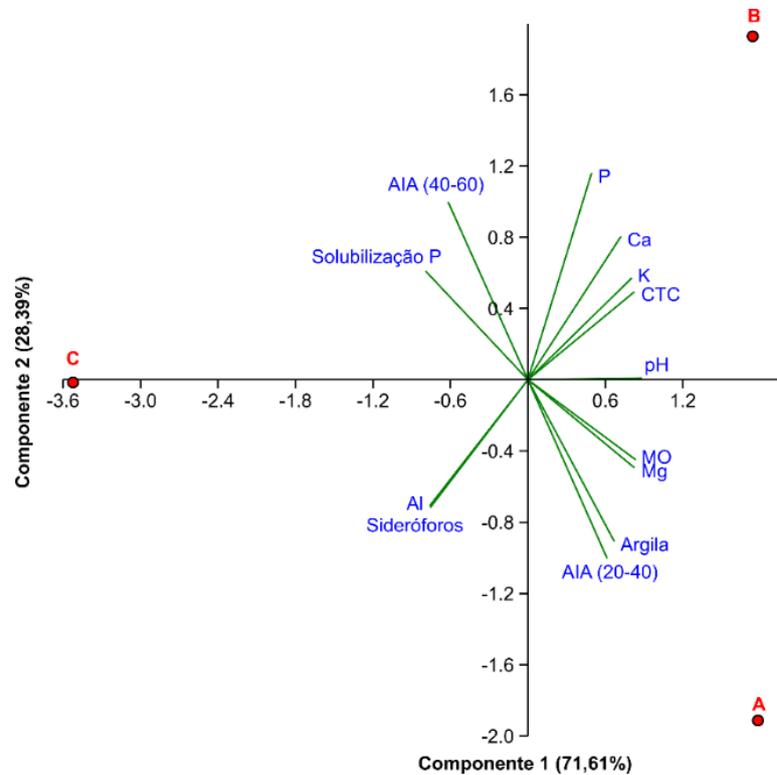
Os dados foram submetidos a testes de normalidade e posterior análise de variância. As médias relativas à capacidade de solubilização de fosfatos e síntese de AIA foram comparadas pelo teste SNK (Student-Newman-Keuls) a 5% de probabilidade, utilizando o software SAS (SAS, 2014).

A Análise dos Componentes Principais (PCA) foi utilizada para avaliar as correlações entre componentes químicos do solo e características relacionadas à promoção de crescimento pelas bactérias, utilizando o software PAST3 (HAMMER *et al.*, 2001).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de correlação entre as características químicas dos solos e a quantidade (%) de isolados que apresentaram características de promoção de crescimento vegetal pode ser observada no Gráfico 1. A partir da análise de componentes principais, foi possível observar uma forte relação entre a produção de sideróforos e os teores de alumínio (Al), além da relação entre a quantidade de isolados capazes de solubilizar fosfato de potássio e produzir AIA nas faixas de $40-60 \mu g mL^{-1}$ com a área C. Essa relação entre sideróforos e alumínio pode ser explicada pelo fato de que os sideróforos possuem afinidade por esse elemento e são capazes de formar variados complexos estáveis junto ao alumínio (EMERY, 1986; HIDER, 1984). Enquanto a relação da área C com a solubilização de K_2HPO_4 e produção de AIA pode ser devido ao fato de que a área, de acordo com a análise de fertilidade obtida, é a menos fértil das analisadas, dessa forma, as bactérias apresentaram maior atividade de solubilização e produção de nutrientes nesta área, de modo a compensar a indisponibilidade de fósforo e aumentar os níveis de AIA.

Gráfico 1 – Gráfico de análises de componentes principais das áreas A, B e C. Correlação entre as características químicas dos solos e a quantidade (%) de isolados que apresentaram características de promoção de crescimento vegetal.



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Todas as estirpes bacterianas apresentaram a capacidade de produzir AIA na presença de triptofano como precursor, com valores acima de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$. A maior porcentagem de bactérias produziu AIA na faixa entre 20 e $40 \mu\text{g mL}^{-1}$, nas três áreas estudadas. Com relação à média de produção de AIA, as bactérias das áreas B e C foram superiores às bactérias da área A em 4,7 e $4,4 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (Tabela 1).

Em um trabalho de Pinheiro (2014), foram exploradas características de promoção de crescimento por microrganismos isolados de *Butia archeri* (Glassman) Glassman. Um dos focos desse estudo foi avaliar e quantificar a produção de AIA por bactérias. Os resultados mostram que das 10 bactérias analisadas, nove foram capazes de produzir AIA em uma faixa de 9,61 a $97,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, resultando em uma média de produção de $60,93 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 1 – Produção de ácido indol acético (AIA) *in vitro* por bactérias obtidas da rizosfera de *Butia odorata*, em Viamão – RS.

Área	< 20 (%)	20-40 (%)	> 40 (%)	* $\mu\text{g mL}^{-1}$
A	0	83,3	16,6	32,3 b
B	0	73,3	26,6	37 a
C	0	70	30	36,7 a
CV	-	-	-	29,4

*Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste SNK (5%). Fonte: Elaborado pela autora (2023).

No presente trabalho, os resultados de produção de sideróforos foram estimados por área. As áreas A, B e C apresentaram, respectivamente, 6,7, 7,3 e 10% dos seus isolados como produtores de sideróforos. Valores inferiores foram observados por Castilho *et al.* (2020), em estudo com 190 isolados bacterianos relacionadas a rizosfera de palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart.), em que apenas 1,05% foram produtores de sideróforos. Por outro lado, Ribeiro (2010) relatou em estudos de promoção de crescimento vegetal por bactérias de *Araucaria angustifolia* a capacidade de produção de sideróforos em 37 isolados dos 97 analisados. As bactérias identificadas como promissoras eram pertencentes às famílias Bacillaceae, Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae. Os resultados mostram cerca de 37% de rizóbios com resposta positiva para a produção de sideróforos. No experimento realizado de solubilização de fosfato de potássio (K_2HPO_4), as médias do IS foram feitas para cada área e as mesmas foram classificadas quanto o seu potencial de solubilização. As classes foram definidas como baixa ($\text{IS} < 2,0$), média ($2,0 \geq \text{IS} \leq 4,0$) e alta ($\text{IS} > 4,0$), seguindo a metodologia proposta por Hara e Oliveira (2005). Além disso, foi analisado a quantidade (%) de isolados por área que apresentaram o poder de solubilizar fosfato de potássio. Os resultados do IS foram de 4,5, 4,2 e 3,8 para as áreas A, B e C, respectivamente, não diferindo entre si estatisticamente (Tabela 2). As classes de solubilização foram indicadas como “alto” para as áreas A e B e “médio” para a área C. Por fim, as áreas A, B e C apresentaram 36,7, 50 e 66,7% dos seus isolados como solubilizadores de K_2HPO_4 (Tabela 2). Em estudos relacionados à palmeira juçara, apenas 7,36% dos 190 isolados bacterianos foram capazes de solubilizar fosfato (Castilho *et al.*, 2020). Hara e Oliveira, (2005) estudaram 30 rizóbios isolados de nódulos de plantas de caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp., cultivar IPEAN – V69) quanto à sua capacidade de solubilizar fosfatos de cálcio e de alumínio em meio sólido. Os resultados obtidos foram de um IS de fosfato de cálcio e alumínio entre 1,06 a 1,24 como baixa capacidade de solubilização. Portanto, os

isolados do presente estudo foram superiores em termos de solubilização já em sete dias analisados, diferentemente do indicado no estudo analisado de Hara e Oliveira (18 dias). Assim, é possível afirmar que os isolados se mostraram promissores quanto a características de solubilização de fosfato de potássio.

Tabela 2 – Índice de Solubilização (IS), classe de solubilização e quantidade (%) de isolados solubilizadores de K_2HPO_4 obtidos em três áreas da rizosfera de *Butia odorata*, em Viamão - RS.

Área	IS	Classe de solubilização	%
A	4,5 a	Alto	36,7
B	4,2 a	Alto	50
C	3,8 a	Médio	66,7
CV	70,4	-	-

*Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste SNK (5%). Área A com plantas de ocorrência natural, sem manejo; área B com plantas de ocorrência natural e pouco manejo (controle de plantas espontâneas); e área C plantas cultivadas (pomar) com manejo intermediário (adubação e calagem). Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Realizar o estágio curricular obrigatório no Laboratório de Microbiologia Agrícola do DDPA foi de grande importância em minha trajetória acadêmica e pessoal. Uma oportunidade de vivenciar a rotina laboratorial, se deparar com as dificuldades e as suas adaptações, participar de uma equipe que auxilia no desenvolvimento da ciência no país, que mesmo com os desafios de impactos econômicos e sociais, mantém a qualidade do que é prestado.

Vê-se a necessidade de explorar mais o gênero *Butia* quando se trata de promoção de crescimento vegetal. Existem diversas características benéficas promissoras que podem ser estudadas e elucidadas, a fim de servir de base técnica para a produção de inoculantes agrícolas. Além disso, a diversidade microbiana deve ser investigada em culturas perenes, assim como o emprego de inoculantes nestas plantas, visto que o uso destes produtos é muito mais significativo em culturas anuais.

Os resultados obtidos no presente trabalho se mostram promissores com relação às características avaliadas. Além disso, existem perspectivas para a continuidade deste estudo. A caracterização em nível de espécie dos isolados, testes de solubilização utilizando outras fontes de fosfato, quantificação da produção de sideróforos, inoculação em sementes e plantas,

visando à avaliação da promoção de crescimento, são fatores que devem ser explorados futuramente, a fim de aprofundar os estudos em *B. odorata*.

REFERÊNCIAS

- AHEMAD, M; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University**, Riyadh, v.26, p.1–20, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JKSUS.2013.05.001>. Acesso em: 11 nov. 2023.
- ALORI, E.T; BABALOLA, O.O. Microbial inoculants for improve crop quality and human health. **Frontiers in microbiology** [S.I]: v.9, 2213, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02213>. Acesso em: 11 nov. 2023.
- BAEZ-ROGELIO, A. *et al.* Next generation of microbial inoculants for agriculture and bioremediation. **Microbial Biotechnology** [S.I]: v.10, p. 19-21, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12448>. Acesso em: 11 nov. 2023.
- BASHAN, Y. *et al.* Advances in plant growth promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant Soil** [S.I]: v. 378, p. 1-33, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>. Acesso em: 11 nov. 2023.
- BERG, G.; MAHNERT, A.; MOISSEL-EICHINGER, C. Beneficial effects of plant-associated microbes on indoor microbiomes and human health. **Frontiers in Microbiology**, [S.I]: v. 5, p. 15, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00015>. Acesso em: 12 nov. 2023.
- 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**, [S.I]: v.17, p.399- 406, 1976. Disponível em: <https://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/view/24869>. Acesso em: 15 nov. 2023.
- BONDAR, G. **Palmeiras do Brasil**. São Paulo: Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, 1964. 159 p. (Boletim, n.2)
- BULGARELLI, D. *et al.* Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. **Annual Review of Plant Biology** [S.I]: v. 64, p. 807–838, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>. Acesso em: 15 nov. 2023.
- BUTTOW, Miriam Valli. **Etnobotânica e caracterização molecular de *Butia* sp.** 2008. 62f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.
- CASTILHO, C.L. *et al.* The rhizosphere microbiome and growth-promoting rhizobacteria of the Brazilian juçara palm. **Science Direct**. [S.I]:, p. 1-7. set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100233>. Acesso em: 19 nov. 2023.
- COOPER. J. *et al.* The future distribution and production of global phosphate rock reserves. **Resources, Conservation and Recycling** [S.I]: v. 57, p.78–86, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.09.009>. Acesso em: 15 nov. 2023.
- DIMKPA, C; WEINAND, T; ASCH, F. 2009. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell & Environment** [S.I]: v. 32, p. 1682-1694. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02028>. Acesso em: 12 nov. 2023.
- DEY, R. *et al.* Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Crop Protection and Challenges. In: Goyal A and Manoharachary C (eds) **Future Challenges in Crop Protection Against Fungal Pathogens**. Springer, New York, p. 31–58, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1188-2_2. Acesso em: 12 nov. 2023.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1995. 60 p. ISBN 85-85007-65-6.

EGAMBERDIEVA, D. *et al.* Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. **Frontiers in microbiology**. [S.I]: 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>. Acesso em: 11 nov. 2023.

EIJK, D.V.D. **Phosphate fixation and the response of maize to fertilizer phosphate in Kenyan soils**. 1997. 186p. Thesis (Master) - Wageningen Agricultural University, Wageningen. 1997. Disponível em: <https://edepot.wur.nl/210644>. Acesso em: 12 nov. 2023.

EMERY, T; Exchange of iron by gallium in siderophores. **Biochemistry**, [S.I]: v. 25, 4629, 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bi00364a026>. Acesso em: 19 nov. 2023.

EMMERT, E. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. **FEMS Microbiology Letters** [S.I]: v. 171, p. 1–9, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(98\)00570-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(98)00570-9). Acesso em: 19 nov. 2023.

FIOR, Claudimar Sidnei. **Propagação de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick & Lorenzi**. 2011. 184 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/131167>. Acesso em: 08 nov. 2023.

FRANCIS, I; HOLSTERS, M; VEREECKE, D. The Gram-positive side of plant-microbe interactions: Minireview. **Environmental Microbiology** [S.I]: v. 12, p. 1–12, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01989.x>. Acesso em: 19 nov. 2023.

GEYMONAT, G; ROCHA, N. M'butiá – Ecosistema único em el mundo. Castillos, Rocha, Uruguay: **Casa Ambiental**, 399 p., 2009. Disponível em: https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=2559. Acesso em: 08 nov. 2023.

GLICK, B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research** [S.I]: p. 30-39, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>. Acesso em: 12 nov. 2023.

GLICK, B.R. **Beneficial plant-bacterial interactions**. Ottawa: Springer International Publishing, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-13921-0>. Acesso em: 08 nov. 2023.

GLICKMANN, E.; DESSAUX, Y. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.I]: v. 61, n. 2, p. 793-796, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.61.2.793-796.1995>. Acesso em: 11 nov. 2023.

GOLDSTEIN, A.H. Involvement of the quinoprotein glucose dehydrogenase in the solubilization of exogenous phosphates by gram-negative bacteria. *In*: TORRIANI-GORINI, A., YAGIL, E., SILVER, S. (eds). **Phosphate in microorganisms: cellular and molecular biology**. Washington/D.C.: ASM, 1994. p. 197-203. Acesso em: 11 nov. 2023.

GOSWAMI, D.; THAKKER, J. N.; DHANDHUKIA, P. C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a review. **Cogent Food & Agriculture**, [S.I]: v. 2, n. 1, p. 1-19, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1127500>. Acesso em: 11 nov. 2023.

- HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T., RYAN, P.D. PAST: paleontological statistics software package for educational and data analysis. **Palaeontology. Electronic**, [S.I.], 2001. Disponível em: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm. Acesso em: 19 nov. 2023.
- HARA, F.A.S; OLIVEIRA, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.40, n.7, p. 667-672, jul., 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2005000700007>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- HASSEN, A.I. *et al.* Microbial Inoculants as Agents of Growth Promotion and Abiotic Stress Tolerance in Plants. **Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity**, New Delhi, p 23–36, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/978-81-322-2647-5_2. Acesso em: 10 nov. 2023.
- HAYAT, R. *et al.* Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A review. **Annals of Microbiology** [S.I]: v. 60 (4), p. 579–598, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- HIDER, R.C.; Siderophore mediated absorption of iron. **Structure and Bonding** 1984, [SI.] 58, 26. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BFb01113>. Acesso em: 19 nov. 2023.
- KAUR, C. *et al.* Organic Acids in the Rhizosphere: Their Role in Phosphate Dissolution. *In: Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*. Springer India, New Delhi, p. 165–177, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4_11. Acesso em: 10 nov. 2023.
- KHAN, M.S; ZAIDI, A; WANI, P.A. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture – A review. **Agronomy for Sustainable Development** [S.I]: v. 27, p. 29-43, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/agro:2006011>. Acesso em: 11 nov. 2023.
- LASTOCHKINA, O. *et al.* Plant growth-promoting bacteria: biotic strategy to cope with abiotic stresses in wheat. *In: Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Hossain, M.A. (eds). Wheat production in changing environments*, p. 179-614. **Agronomy for Sustainable Development**. Springer Nature, Cham, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-13-6883-7_23. Acesso em 12 nov. 2023.
- LEITMAN, P.; *et al.* Arecaceae. *In: LISTA de Espécies da Flora do Brasil*. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/FB129535>. Acesso em 01 nov. 2023.
- LORENZI, H. *et al.* **Flora brasileira – Arecaceae (palmeiras)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2010. 384 p.
- MATTIUZZI, P.H.P; VENDRUSCOLO, E.C.G; SANTOS, M.F. Characterization of indole-3-acetic acid content in inoculant fractions and its effect on plant growth. **Pesquisa Agropecuária Tropical** [S.I]:, 52, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-40632022v5273044>. Acesso em: 19 nov. 2023.
- MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson; Prentice Hall, 2004.
- MARCATO, A. C. **Revisão taxonômica do gênero *Butia* (Becc.) Becc. (Palmae) e filogenia da subtribo Buttiinae Saakov (Palmae)**. 2004. 147f. Tese (Doutorado em Ciências) -

Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001414256>. Acesso em: 01 nov. 2023.

MATTOS, J.R. Palmeiras do Rio Grande do Sul. **Roessleria**, Porto Alegre, v. 1, n. 1, p. 5-94. 1977.

OLIVEIRA, M.L.A.A. *et al.* (Org.) **Biodiversidade**: Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapes. Planície Costeira do Rio Grande do Sul. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente. 2007. p. 84-111. Disponível em: <https://www.terrabrasil.org.br/ecotecadigital/pdf/serie-biodiversidade--25-regioes-da-lagoa-do-casamento-e-dos-butiazais-de-tapes-planicie-costeira-do-rio-grande-do-sul.pdf> Acesso em: 08 nov. 2023.

OWEN, D. *et al.* Use of commercial bioinoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. **Applied Soil Ecology** [S.I]: v. 86, p. 41–54, 2015. Disponível em: doi 10.1016/j.apsoil.2014.09.012. Acesso em: 12 nov. 2023.

PAYNE, SM. Detecção, isolamento e caracterização de sideróforos. **Métodos em Enzimologia**, [S.I]: 235, 329–344, 1994. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)35151-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)35151-1). Acesso em: 19 nov. 2023.

PEREIRA, G.V. *et al.* Multiphasic approach for the identification of endophytic bacterial in strawberry fruit and their potential for plant growth promotion. **Microbial Ecology**, [S.I]: v. 63, p. 405-417, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9919-3>. Acesso em 18 nov. 2023.

PINHEIRO, Liliane Círa. **Isolamento, caracterização e traços funcionais de microrganismos rizosféricos e endofíticos de *Butia archeri* Glassman**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Instituto Federal Goiano Campus Rio Verde, Goiânia, Rio Verde, 2014.

PODOLICH, O. *et al.* Reviving of the 79 endophytic bacterial community as a putative mechanism of plant resistance. **Plant Soil** [S.I]: v. 388, p. 367–377, 2015. Disponível em: doi 10.1007/s11104-014-2235-1. Acesso em 18 nov. 2023.

PREININGER, C. *et al.* Concepts and applications of foliar spray for microbial inoculants. **Applied microbiology and biotechnology**, [S.I]: v. 102, p. 7265-7282, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9173-4>. Acesso em: 10 nov. 2023.

RAMAKRISHNA, W. *et al.* Gold of Marginal Soil: Plant Growth Promoting Bacteria to Overcome Plant Abiotic Stress for Agriculture, Biofuels and Carbon Sequestration. **Science of the Total Environment** [S.I]:, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135062>. Acesso em: 19 nov. 2023.

REIJNDERS, L. Phosphorus resources, their depletion and conservation, a review. **Resources Conservation and Recycling** [S.I]: v. 93, p. 32–49, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2014.09.006>. Acesso em: 14 nov. 2023.

RIBEIRO, Carlos Marcelo. **Isolamento, seleção e caracterização de rizobactérias com potencial para promoção do crescimento em *Araucaria angustifolia***. 2010. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, Piracicaba, 2010.

SANTOYO, G. *et al.* Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research** [S.I]: v. 183, p. 92–99, 2016. Disponível em: doi 10.1016/j.micres.2015.11.008. Acesso em: 10 nov. 2023.

SAS INSTITUTE INC. **SAS® University Edition**: installation guide for Windows. Cary: SAS Institute, [S.I]., 2014. Disponível em: <https://www.sas.com/>. Acesso em: 19 nov. 2023.

SAUER, M; ROBERT, S; KLEINE-VEHN, J. Auxin: simply complicated. **Journal of Experimental Botany** [S.I]: v. 64, p. 2565- 2577, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/ert139>. Acesso em: 15 nov. 2023.

SCHWARTZ, E. *et al.* Avaliação de populações de *Butia capitata* de Santa Vitória do Palmar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 3, p.736-745, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000089>. Acesso em: 08 nov. 2023.

SCHWYN, B.; NEILANDS, J. B. Universal CAS assay for the detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, [S.I]: v.160, p. 47- 56, 1987. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9). Acesso em: 19 nov. 2023.

SHEN, J. *et al.* Phosphorus Dynamics: From Soil to Plant. **Plant Physiology** [S.I]: v. 156, p. 997–1005, 2011. Disponível em: doi 10.1104/pp.111.175232. Acesso em: 10 nov. 2023.

SINDHU, S.S; PHOUR, M; CHOUDHARY, S.R; CHAUDHARY, D. Phosphorus Cycling: Prospects of Using Rhizosphere Microorganisms for Improving Phosphorus Nutrition of Plants. *In*: PARMAR, N.; SINGH, A. (orgs) **Geomicrobiology and Biogeochemistry**. Berlin Heidelberg: Springer, 2014. p 199–237. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-41837-2_11. Acesso em: 15 nov. 2023.

SOUZA, R; AMBROSINI, A; PASSAGLIA, L.M.P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology** [S.I.] v. 38(4), p. 401–419, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>. Acesso em: 08 nov. 2023.

SPAEPEN, S. Plant hormones produced by microbes. *In*: LUGTENBERG, (ed.) **Principles of Plant-Microbe Interactions**. [S.I.]: Springer, 2015. p. 247-256.

SPAEPEN, S; VANDERLEYDEN, J. Auxin and plant-microbe interactions. **Cold Spring Harb Perspect Biol** [S.I]: v. 3, p. 1–13, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001438>. Acesso em: 19 nov. 2023.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, [S.I]: v. 31, n. 4, p. 425-448, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>. Acesso em: 19 nov. 2023.

TONIETTO, A.; SCHLINDWEIN, G.; TONIETTO, S. M. **Usos e potencialidades do butiazeiro**. Porto Alegre: Fepagro, 2009. 28p. (Circular Técnica, n. 26) Disponível em: <www.sct.rs.gov.br/include/download.php?arq=1256811442butia_oficial.pdf> Acesso em: 01 nov. 2023.

TORSVIK, V., ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology** [S.I]: v. 5, p. 240–245, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1369-5274\(02\)00324-7](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(02)00324-7). Acesso em: 15 nov. 2023.

VEJAN, P. *et al.* Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. **Molecules** [S.I]: v. 21, p. 573, 2016. Disponível em: doi 10.3390/molecules21050573. Acesso em: 12 nov. 2023.

WAECHTER J. L. Aspectos ecológicos da vegetação de restinga do Rio Grande do Sul. **Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS**, sér. Bot., Porto Alegre, 1985, v. 33, p. 49-68.

APÊNDICE A - Localização das áreas de coleta de solo, Centro de Pesquisas – Viamão/RS.



Fonte: Adaptado de Google Earth (2023).

APÊNDICE B – *Análise química de solo das áreas A, B e C. Camada de 0-20 cm.

Análise básica												
Amostra	P	K	Arg	MO	pH	SMP	Al	Ca	Mg	H+Al	CTC	
											pH7	Efetiva
	mg/dm³		%							cmol/dm³		
Área A	5,3	115,0	34,0	3,1	5,3	5,8	0,3	3,1	2,3	5,5	11,2	6,0
Área B	32,1	170,0	26,0	2,7	5,3	5,9	0,2	4,7	1,9	4,9	11,95	7,3
Área C	2,8	34,0	22,0	1,9	5,1	6,0	0,4	1,9	1,2	4,4	7,578	3,6

Micronutrientes											
Amostra	B	Zn	Cu	Mn	Na	S	Fe	Na	Al	Sat CTC	
										efetiva	pH 7
	mg/dm³						%	%		Bases	
											%
Área A	0,6	4,0	1,4	24,5	7,0		0,1	0,5	5,0		51,1
Área B	0,3	14,3	2,6	25,4	5,0		0,3	0,3	2,8		59,1
Área C	0,1	2,0	1,2	27,3	7,0		0,1	0,8	11,1		42,5

*Obs: nd = não determinado; CTC pH7 = Quantidade de cargas a pH7; CTC Efetiva = Quantidade de cargas ao pH natural do solo. Fonte: Elaborado pela autora (2023).