



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA APLICADA À  
AGROPECUÁRIA -PPGBAA

FRANK JARDEL DE SOUSA LIMA

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS EM SOLOS DE RAÍZES DE DENDÊZEIRO  
(*Elaeise guineense*), COM POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO  
VEGETAL.

**BELÉM-PA**  
**2023**

FRANK JARDEL DE SOUSA LIMA

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS EM SOLOS DE RAÍZES DE DENDÊZEIRO (*Elaeise guineense*), COM POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL.

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, da Universidade Federal Rural da Amazônia como requisito para obtenção do Título de Mestre.

Área de concentração: Recursos Genéticos Vegetais  
Orientadora: Prof<sup>o</sup>. Dr. Roberto Lisboa Cunha.

**BELÉM**  
**2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia  
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- D278p De Sousa Lima, Frank jardel de sousa  
PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS EM SOLOS DE RAÍZES DE DENDÊZEIRO (Elaeise guineense),  
COM POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL / Frank jardel de sousa De  
Sousa Lima. - 2023.  
58 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária  
(PPGBAA), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2023.  
Orientador: Prof. Dr. Roberto Lisboa Cunha
1. Bacterias promotoras de crescimento vegetal . 2. Dendzeiro . 3. microrganismos de solo. I. Lisboa  
Cunha , Roberto , *orient.* II. Título
- 

CDD 571.2

FRANK JARDEL DE SOUSA LIMA

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS EM SOLOS DE RAÍZES DE DENDÊZEIRO (*Elaeise guineense*), COM POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL.

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Biotecnologia aplicada à Agropecuária, para obtenção do título de mestre.

Orientador:

Coorientador:

Data de aprovação

BANCA EXAMINADORA:



---

Orientador

Prof. Dr. Roberto Lisboa Cunha  
(Embrapa Amazônia Oriental)

 Documento assinado digitalmente  
RAFAEL BORGES DA SILVA VALADARES  
Data: 17/10/2023 13:36:26-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro 1

Prof. Dr. Rafael Borges Da Silva Valadares  
(Instituto Tecnológico do Vale)

 Documento assinado digitalmente  
MARCELO MURAD MAGALHAES  
Data: 20/10/2023 08:33:52-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro 2

Prof. Dr. Marcelo Murad magalhães  
(Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)

 Documento assinado digitalmente  
RAFAEL AZEVEDO BARAUNA  
Data: 18/10/2023 11:56:56-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro 3

Prof. Dr. Rafael Azevedo Baraúna  
(Universidade Federal do Pará)

---

Suplente

Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy  
(Universidade Federal Rural da Amazonia)

---

Aos meus pais, Francisco José Cardoso de lima e Jacirene de Sousa Lima. Os melhores parceiros que poderia pedir nessa jornada.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus e a Nossa Senhora de Nazaré, que vem me acompanhando nesses últimos tempos de minhas trajetórias, e me ajudou a vivenciar esse momento difícil, porém gratificante.

Agradeço a minha família que sempre me incentivou na minha carreira acadêmica, e acreditarem nas minhas capacidades mesmo quando sou desastrado e esquecido. Por terem me suportando com minhas nerdices diárias e me sustentarem financeiramente. Agradeço principalmente a minha mãe que quando duvidei de minhas próprias capacidades de executar e concluir algum desafio, ela acredita em mim de tal forma que me faz crer também. Agradecer meu pai, por me ajudar a relaxar e levar as coisas com mais leveza. A minha maninha por me distrair com suas altas fofocas e meus avós que sempre me acompanham.

Obrigado professor Roberto Lisboa pro me ajudar nessa trajetória e me acolher no curso.

Agradeço muito ao professor Rafael Baraúna, que me guiou no laboratório e me fez evoluir grandemente em minhas habilidades.

Aos meus guias no laboratório Johnne Sanche e Aline Saraiva, meus amigos de laboratório que me ajudaram a ser um estudante e um profissional melhor no laboratório, me ensinando como otimizar meu tempo.

Agradeço a instituição UFRA e programa PPGBAA, por me permitir adquirir esse título. A Empresa EMBRAPA e Marborger que me forneceram as amostras. Ao laboratório ENGBIO no complexo PCT, que me acolheu e permitiu desenvolver minhas habilidades.

Aos meus parceiros de laboratório, Savio, Dandara Melo, Giovana, Suelem, Salmanira e Soraya.

Aos meus amigos de curso, Erik, Ynara, Sayure, Fernando e Vilanni, que nesses altos e baixos do curso riram e choraram junto comigo.

Agradeço muito a meus tios Marlene e Carlinho, por me acolherem de braços abertos em sua casa, pelo tempo que foi preciso. E por serem meu lar em Belém me ajudando muito além do que eu imaginaria.

Agradecer aos meus amigos Raphael, Valderci, Adenilso, Nadson e Amber/Geovana por serem meu escape desse mundo doido.

Apesar de todos os desafios que tive nesse tempo, eu agradeço a oportunidade de crescimento ao ver o quão longe pude chegar

## RESUMO

Dos frutos do dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq) são extraídos 46% dos óleos comestíveis do mundo; bem como, ainda, apresentam grande gama de participação na produção de cosméticos, alimentos e biocombustíveis. Para tal, há necessidade de vultuosos aportes de fertilizantes químicos para manter produtividades satisfatórias. Uma alternativa sustentável é o uso de microrganismos promotores de crescimento para de melhorias de eficiências no uso de fertilizantes. O presente estudo visa prospectar, selecionar e identificar bactérias promotoras de crescimento associadas as raízes de dendezeiros. As amostras vegetais, foram obtidas em plantio comercial de dendê (Marborges S.A.) no município de Moju no Pará. Ao todo 37 bactérias foram selecionadas e conservadas em glicerol, e, submetidas à avaliação *in vitro* da capacidade de promover o crescimento vegetal. Desse grupo 16 passaram por análise filogenética. Foram identificados um total de 9 gêneros, tendo predominância de três (*Klebsiella sp*, *Enterobacte e Rossellomerea*). Portanto, a rizosfera da plantação de dendezeiro analisadas apresentava uma grande diversidade de bactérias dotadas de múltiplas características promotoras de crescimento vegetal que apresentaram um ótimo índice de solubilização de fosfato inorgânico (cepa P36 , *Achromobacter sp.*), bem como (capacidade fixadora de nitrogênio e sintetizadora de ACC deaminase, cepa P27. Ademais identificamos a presença de bactéria *Pectobacterium sp*, ainda que ainda não foi caracterizada em laboratório.

PALAVRAS-CHAVES: Dendezeiro, BPCP, Rizobactérias, Prospecção do solo, PCR.

## ABSTRAT

From the fruits of the oil palm tree (*Elaeis guineensis* Jacq), approximately 46% of the world's edible oils are extracted. Additionally, they play a significant role in the production of cosmetics, food, and biofuels. However, achieving satisfactory productivity requires substantial application of chemical fertilizers. An environmentally friendly alternative is the use of growth-promoting microorganisms to enhance fertilizer efficiency. This study aims to explore, select, and identify growth-promoting bacteria associated with the roots of oil palm trees. Plant samples were collected from a commercial oil palm plantation (Marborges S.A.) in the Moju municipality, Pará. A total of 37 bacterial strains were selected and preserved in glycerol for in vitro evaluation of their ability to promote plant growth. Among these, 16 strains were further subjected to phylogenetic analysis. Nine different genera were identified, with three prevailing genera being *Klebsiella* sp, *Enterobacte*, and *Rosellomerea*. Therefore, this study reveals that the rhizosphere of the sampled oil palm plantation (*Elaeis guineensis* Jacq) harbors a diverse array of bacteria with multiple plant growth-promoting characteristics. The identified bacteria exhibited a high level of inorganic phosphate solubilization, with the strain P36 (*Achromobacter* sp.) showing the highest solubilization index. Additionally, only the isolate P27 demonstrated nitrogen-fixing and ACC deaminase synthesizing capabilities. Furthermore, an uncharacterized bacterium, *Pectobacterium* sp., was also identified in this study.

**KEYWORDS:** Oil palm, PGPR, Rhizobacteria, Soil prospecting, PGPB.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Folhas e furtos do Dendezeiro .....	6
<b>Figura 2:</b> Microrganismos presentes no solo. ....	11
<b>Figura 3:</b> Mecanismos diretos de promoção de crescimento feito por bactérias promotoras de crescimento: Atividade da enzima acc deaminase; solubilização de fosfato; fixação biológica de nitrogênio. ....	13
<b>Figura 4:</b> Mapa da localização da área de coleta.....	20
<b>Figura 6:</b> Distribuição de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) de acordo com seu índice de fixação de fosfato do nutriente.....	29
<b>Figura 7:</b> Análise da amplificação do gene nifH3 (Eletroforese vertical em gel de agarose 1%). Em cada canaleta foi aplicada 5 $\mu$ l em géis de agarose de DNA Amplificado por RT-PCR. L- 2 $\mu$ l de ladder (peso molecular 2000). Em vermelho destacado a presença do gene nifH3, nas amostras P7, P10, P17, P18, P19, P27e P36 Na imagem, são apresentados dois géis de agarose com os produtos amplificados do gene nifH3. As bandas correspondem à presença do gene nifH3 em 7 isolados bacterianos. ....	30
<b>Figura 8:</b> Avaliação da produção de ACC deaminase através da comparação do crescimento das colônias das bactérias em três meios mínimos: (c-) controle negativo, sem fonte de nitrogênio; (C+) controle positivo, suplementado com sulfato de amônia como fonte de nitrogênio.....	32

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Bactérias obtidas isoladas na rizosfera de dendezeiro, e suas características promotoras de crescimento. ....	24
<b>Tabela 2:</b> Bactérias de índice alto de solubilização de fosfato identificados. ....	28
<b>Tabela 3:</b> Isolados identificados pelo 16s com presença de gene nifH3. ....	31
<b>Tabela 4:</b> Isolados identificados com atividade ACC desaminase. ....	32

## LISTA DE SIGLAS

<b>POME</b>	Efluente da Fábrica de Óleo de Palma
<b>BPCV</b>	Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal
<b>ACC</b>	1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>UFPA</b>	Universidade Federal do Pará
<b>UFRA</b>	Universidade Federal Rural da Amazônia
<b>TSA</b>	Ágar de Soja Tríptico
<b>TSB</b>	Caldo Triptona Soja
<b>rpm</b>	Rotações por minutos
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia da Polimerase
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>NCBI</b>	National Center for Biotechnology Information
<b>Pi</b>	Índice de solubilização de fosfato
<b>BFN</b>	Bactérias fixadoras de nitrogênio
<b>BSF</b>	Bactérias solubilizadoras de fosfato
<b>PGPR</b>	Plantas Promotoras do Crescimento
<b>OPB</b>	Óleo de Palma Bruto
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>PCV</b>	Promoção de Crescimento em Plantas
<b>NBRIP</b>	
<b>rRNA</b>	Ácido Ribonucleico Ribossômico
<b>rDNA</b>	Ácido Dexorribonucleico Ribossômico
<b>BLAST</b>	Basic Local Alignment Search Tool
<b>BSF</b>	Bactérias Solubilizadoras de Fosfato
<b>FBN</b>	Fixação Biológicas de Nitrogênio
<b>nifH</b>	Enzimas Nitrogenases

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>CO<sup>2</sup></b>	Dióxido de carbono
<b>C</b>	Carbono
<b>N</b>	Nitrogênio
<b>F</b>	Fosfato
<b>NO<sup>3-</sup></b>	Nitrato
<b>NH<sup>4+</sup></b>	Amônia
<b>(NH<sub>4</sub>) SO<sub>4</sub></b>	Sulfato de amônia
<b>Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub></b>	Fosfato de cálcio
<b>%</b>	Porcentagem
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>mL</b>	Mililitros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>mM</b>	Milimols
<b>ug</b>	Microgramas
<b>uL</b>	Microlitros
<b>XIX</b>	Século 19
<b>XX</b>	Século 20
<b>kg</b>	Quilograma
<b>cm</b>	Centímetros
<b>g</b>	Gramas
<b>L</b>	Litro
<b>pb</b>	Pares de bases
<b>ng</b>	Nanograma
<b>10<sup>4</sup></b>	Dez elevado a quarta potência
<b>US \$</b>	Dólar americano

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA</b>	<b>3</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>4</b>
<b>3.1 Geral</b>	<b>4</b>
<b>3.2 Específicos</b>	<b>4</b>
<b>4. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
<b>4.1 Dendezeiro</b>	<b>5</b>
<b>4.2 A importância do Dendezeiro</b>	<b>7</b>
<b>4.3 Diversidade microbiana do solo</b>	<b>10</b>
<b>4.4 Bactérias benéficas às plantas</b>	<b>12</b>
<b>4.5 Biofertilizantes</b>	<b>16</b>
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>19</b>
<b>5.1 Área de coleta</b>	<b>19</b>
<b>5.2 Isolamento de bactérias associadas à raiz de dendezeiro.</b>	<b>20</b>
<b>5.3 Investigação da atividade PCV das cepas</b>	<b>21</b>
<b>5.3.1 A atividade ACC deaminase</b>	<b>21</b>
<b>5.3.2 Detecção de fosfato</b>	<b>21</b>
<b>5.3.3 Detecção de gene da enzima nitrogenase (nifH)</b>	<b>22</b>
<b>5.3.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento do gene 16s</b>	<b>22</b>
<b>5.4 Bioinformática</b>	<b>23</b>
<b>6. RESULTADOS E DISCURSÃO</b>	<b>24</b>
<b>6.1 Identificação de isolados</b>	<b>24</b>
<b>6.2 Teste de solubilização de fosfato</b>	<b>28</b>
<b>6.3 Teste para presença de gene nifh3</b>	<b>30</b>
<b>6.4 Teste de A atividade ACC deaminase</b>	<b>32</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>36</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O *Elaeis guineensis* Jacq popularmente conhecido com Dendê africano é uma planta perene da família *Arecaceae*, com origem nas planícies da África Ocidental e Central, principalmente pela costa atlântica do Cabo Verde e Angola (MURUGASAN et al., 2017; ONG et al., 2019). No Brasil cerca de 197.580. ha de área destinada a colheita, produzindo cerca de 2.887.696. t de cacho de Dendezeiro, foram produzidos no ano de 2021 (IBGE, 2021)

No decorrer da história o óleo do dendezeiro teve vários usos, sendo aplicado na fabricação de sabão, velas, produção de gás de iluminação, lubrificação de trilhos ferroviários e margarinas (CORLEY; TINKER, 2018).Aliado a isso, tradicionalmente essa cultura é muito importante no setor alimentício, maior fonte de óleo comestível usada no mundo, sendo fundamental na cultura gastronômica de vários países, principalmente nos países de maior produção como Indonésia, Malásia, Tailândia, Colômbia e Nigéria (RODRIGUES -NETO et al, 2018).

A produção de biocombustível é outro setor que faz muito uso de óleos vegetais. Visto que essa é uma matéria prima com preço acessível e fácil de se obter em grandes quantidades (BERGMANN et al, 2013). O dendezeiro africano (*Elaeise guineenses*) é uma ótima cultura para produção de biocombustível, visto que apresenta uma alta produção de frutos por área e custo de produção relativamente mais barato em relação a óleos vegetais, como o do amendoim, soja e milho, que tem um rendimento menor, por produzirem frutos apenas uma vez por ano (AHMAD et al., 2019).

O comércio de biodiesel vem conquistando cada vez mais espaço no mercado internacional, existindo desde de os anos de 1920. Porém o incentivo a esse novo meio de energia só foi ocorrer na década de 70 com a crise nacional do petróleo, que levou a busca por fontes alternativas de combustível (OSAKI; BALALHA, 2011). Atualmente a busca por meios mais limpos de energia, pouca flutuação dos preços e a consciência global sobre os riscos de continuar usando combustíveis fósseis, fomentam cada vez mais a produção de biocombustível. No Brasil, aproximadamente 17% da produção energética de energia gira em torno do uso desses combustíveis; consumindo em 2007, cerca de 41,6 bilhões de litros de óleo diesel (QUEIROZ et al., 2012).

Esse mercado de biocombustível em expansão, apresenta grandes gastos com uso de fertilização química, que além de encarecer o produto e está intimamente relacionado a

interferências em ciclos naturais do ecossistema (SAKATA et al., 2015). Muitos estudos apontam que a produção agrícola tradicional teve um aumento significativo na produção nos últimos 50 anos devido o desenvolvimento e uso, de fertilizantes e pesticidas, porém, além de serem gastos consideráveis, esses insumos agrícolas são associados a vários problemas ambientais, como contaminação de afluentes e do solo (RAMAKRISHNA, 2019). Com isso se faz necessário buscar formas alternativas para redução desses males. Visto que, os grandes gastos da cultura com fertilização, que leva ao encarecimento da produção e problemas ambientais.

Os organismos vegetais se apresentam como um complexo sistema hospedeiro, compostos por uma variedade de micro-habitat colonizados por diversos microrganismos trazendo vários benefícios para a planta (FELESTRINO et al., 2017). As bactérias promotoras de crescimento geram grandes melhoras na saúde da planta, conseguindo além disso reduzir a incidência de patógenos através da competição, antagonismo e produção de substâncias inibidoras como sideróforos (YASMIN et al., 2016).

As bactérias possuem uma intrínseca relação com as plantas, e algumas delas estabelecem relações benéficas capazes de favorecer o seu desenvolvimento (KHAN et al 2020). Essas bactérias podem se associar às raízes, caule ou folhas, é utilizar vários mecanismos de promoção de crescimento como produção de ácido indol acetil, solubilização de fosfato inorgânico, fixação de nitrogênio, aumento na atividade da 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico deaminase (ACC desaminase) e aumentar a absorção de nutrientes do solo (EIDA et al., 2016).

Dessa forma, o uso de Plantas Promotoras do Crescimento (PGPR) apresenta grandes vantagens na agricultura, pois leva a um aumento da produção e redução do uso de insumos agrícolas, o que permite uma significativa redução do impacto da agricultura no meio ambiente (VEJAN et al., 2016).

## 2. JUSTIFICATIVA

O dendê africano, *Elaeis guineenses*, é uma cultura extremamente abundante em florestas tropicais da África e do mundo. Sua propriedade única como oleaginosas a tornam essa uma das culturas mais importantes do mundo. O óleo oriundo de seus frutos tem grande destaque no setor alimentício. Além disso, vem ganhando cada vez mais destaque no ramo de biocombustíveis.

As plantas em seus ambientes apresentam uma grande variedade de microrganismos ao qual mantém algum tipo de interação. Algumas bactérias estabelecem um tipo de relação benéfica às plantas capazes de estimular o seu crescimento. Porém esse conhecimento ainda é pouco explorado pela produção agrícola.

Existem várias pesquisas referentes ao aumento da produção e resistência do dendezeiro. Porém, a maioria desses métodos estudados não aborda as relações interespecies do dendezeiro, dessa forma a busca por bactérias capazes de promover o crescimento do dendezeiro, auxiliando a produção de óleo de dendê.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

- Realizar o levantamento da biodiversidade das bactérias encontradas em raízes de dendezeiro que apresentem potencial para promoção de crescimento vegetal.

#### **3.2 Específicos**

- Realizar a prospecção de bactérias encontradas na rizosfera e endosfera do dendezeiro.
- Extrair, separar e sequenciar o gene RNA ribossomal 16 das bactérias em raízes de dendezeiro;
- Realizar uma investigação de bactérias em relação à ao potencial promotor de crescimento em plantas.
- Fornecer subsídios teóricos e técnicos para criação de técnicas de manejo e inoculantes que possam melhorar o desenvolvimento e rendimento da cultura do dendezeiro.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Dendezeiro

O dendezeiro (*Elaeis guineenses*), é uma planta pertencente à família das palmeiras (*Arecaceae*), integrante do grupo das monocotiledôneas, oriundo da África Ocidental (CHE ZAIN, et al., 2020). Atualmente sua distribuição chega a alcançar o mundo todo, sendo possivelmente uma das espécies domésticas mais cultivadas no mundo (SOUSA, et al., 2016.).

A distribuição ocorre preferencialmente nas zonas tropicais, principalmente pela África, se estendendo desde a África oriental, passando pela central, e chegando finalmente à África ocidental. De forma que, atualmente os países com maiores cultivos de dendê são a Angola, Benini, Camarões, Congo, Gana, Costa do Marfim, Nigéria, Serra Leoa, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Indonésia, Malásia, Papua Nova Guiné e Tailândia (MURUGESAN et al., 2017).

O crescimento da plântula do Dendezeiro é longo, inicia-se com cerca de 12-18 meses de cultivo em um viveiro antes de ser instalada em algum campo de produção. Após instalado o produtor deve esperar cerca de 30 meses para começar a surgir os cachos, porém a sua vida de produção é relativamente longa, variando de 20-30 anos (MURUGESAN et al., 2017). Esse longo período atribuído ao seu ciclo de vida não é adequado às exigências do mercado, o que faz com que muitos laboratórios de plantações, façam uso de técnicas de propagação clonal em espécimes de alto rendimento, capazes de produzir mais de 10 t de cachos por ano (TAN, 2017).

O cultivo do dendezeiro tem preferências por áreas abertas, geralmente no formato de monoculturas. Apesar de existir pequenas áreas que fazem uso de sistemas mistos ou agroflorestais. Esses sistemas não apresentam uma boa relação entre produtividade econômica e impactos ambientais, levando a um aumento da busca por melhorias desses métodos, visando reduzir as questões ambientais associadas a essa cultura (MEIJAARD et al., 2020; KHASANAH et al., 2020).

Suas folhas podem demorar cerca de 2 a 3 anos para se desenvolver por completo, desde seu surgimento até desdobrarem-se no centro da copa das árvores. Suas eflorescências se desenvolvem no espaço de um ano em uma forma acrópeta nas axilas das folhas, protegida quando imatura, pela coroa de folhas (ADAM et al., 2005).

**Figura 1:**Folhas e furtos do Dendezeiro



Fonte: Autor (2022).

Seu sistema radicular se caracteriza por ser do tipo fasciculado, geralmente grossas e numerosas, suas raízes principais são grandes de coloração marrom, emergindo diretamente do disco radicular podendo apresentar um diâmetro que varia entre 4-10 mm. Já as raízes secundárias apresentam um diâmetro médio menor de 1-2 e cerca de 25 a 30 cm de comprimento, em proporção de 40 raízes secundárias para cada raiz principal (CARVALHO, 2000).

O surgimento da inflorescência demora cerca de 2-3 anos, emergindo da parte axial da folha. Seus frutos se apresentam com cerca de 1000 a 3000 amêndoas agrupadas em um cacho, o mesocarpo das frutas apresentar uma cor laranja onde se encontra o óleo de palma, envolvendo uma estrutura rígida de lignina que contém um caroço branco contendo o óleo de palmiste pesando aproximadamente 15 kg, sendo 25% desse peso composto por óleo (CARRT, 2011; AHMAD et al., 2019).

A polinização do dendê africano na terra natal é realizada por insetos coleópteros do grupo *Curculionidae*, principalmente o gorgulho *Elaeidobius kamerunicu*. De forma, que ainda hoje a realização de grande parte do cultivo depende da introdução desse inseto (LI, Y et al, 2019). Apesar de existir mundialmente outros organismos se envolvem na polinização dessa cultura, porém servindo geralmente como complemento, tendo uma participação muito menor na produtividade das plantações em comparação os *E. kamerunicu* (LI, K et al., 2019).

## 4.2 A importância do Dendzeiro

O fruto do dendê (*Elaeis guineensis Jacq*), já se apresentava muito relevante, nas primeiras comunidades humanas devido o óleo extraído de suas amêndoas que eram fundamentais para as aldeias da África Ocidental. porém foi só no século XIX que se deu início das primeiras exportações para o resto do mundo, que levaram as suas primeiras produções em grande escala na Malásia e indonésia no início do século XX (CARRT, 2011). Atualmente a sua produção é responsável por 46% dos óleos comestíveis do mundo. Ainda apresenta grande gama de participação na produção de cosméticos, alimentos e biocombustíveis (TAN, 2017).

Dos produtos oriundos dessa cultura os mais conhecidos são os óleos da polpa, retirado do mesocarpo de seus frutos; e o óleo de palmiste que provém da amêndoa (PARVEEZ et al., 2015). A composição específica do óleo extraído da planta, se apresenta em níveis balanceados de ácidos graxos insaturados e ácidos graxo saturados, além de ácido palmítico, ácido oleico e uma quantidade residual de ácido linoleico (ALMEIDA et al., 2019).

Na era moderna as plantações de dendzeiro foram amplamente difundidas pelo mundo especialmente nas regiões tropicais. Com a Nigéria foi por muito tempo a maior produtora de dendê até 2007, quando foi superada pela Indonésia em número de plantações e pela Malásias em exportação de óleo de dendê, tornando essa a cultura mais importante para esses países (ONOJA et al., 2019; ONG et al., 2019).

No ano de 2022 segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos estipulou uma produção mundial de cerca de 78,144 milhões de toneladas. Os maiores produtores de óleo de palma são encontrados na Ásia, com a Indonésia ocupando o topo da lista, com a produção de 46,000 milhões de toneladas de óleo, seguido pela Malásia (19,000 MT) e Tailândia (3,414 MT) (MARQUES et al., 2019; USDA, 2022)

Brasil tendo produzido cerca de 570 milhões de toneladas de óleo de palma, ocupando o 10º lugar, representando 15% da produção mundial de óleo de palmeira. (USDA, 2022). O território nacional apresenta um grande potencial para o desenvolvimento da cultura na região amazônica. O estado do Pará tem a maior quantidade de áreas de cultivo de dendê do Brasil, com aproximadamente 140 mil hectares de produção, produzindo cerca de 770 mil toneladas de óleo todos os anos (NASCIMENTO et al, 2020; BRAZILIO et al., 2012). Demonstrando um retorno monetário aproximado de US \$2.000 por hectare, tornando essa uma atividade

econômica de alto lucro para a econômica paraense (BARCELOS et al., 2015; DE JESUS BORGES et al., 2016).

O fruto do dendê se destaca pela alta quantidade de óleo liberada de sua extração, que é usada como matéria prima de diversos produtos. Estima-se que sua produção de óleo por hectare pode ser seis vezes maior que o amendoim e oito vezes maior que a soja (XIA et al., 2019; OSORIO-GUARÍN et al., 2019). Além disso, os custos de sua produção são muito mais baratos em comparação à soja e à colza. Visto que, por ser uma árvore perene, e sua vida útil produtiva se perpetua por aproximadamente 25 anos, e dispensa os custos com semeadura anual, exigidos pela soja e colza (AHMAD et al., 2019).

O uso mais tradicional do óleo de dendê é na culinária, onde é usado principalmente no processo de fritura ou cocção de alimentos, como frango, carnes, massas e salgados. Sua composição rica em ácidos graxos e triacilglicerol faz ser componente de vários artigos alimentícios como, gorduras, sorvete, cremes e vitaminas (MBA et al., 2015). O óleo de palma bruta (OPB), se mostra composto por várias substâncias saudáveis para o corpo, como, Vitamina E, triacilglicerol, carotenoides, fitosteróis e fosfolipídios. Porém seu uso só é recomendado após o refinamento devido aos altos teores de ácidos graxos (MANCINI et al., 2015).

Outro setor que o óleo de (dendê ou palma) vem ganhando destaque é o mercado do biocombustível, pois devido ao esgotamento previsto do petróleo disponível para a produção de combustíveis fósseis, junto a demanda ambiental por fontes de energia mais limpas e a busca por energia renovável leva ao aumento da relevância desses produtos no mercado internacional (KANIAPAN et al., 2021). Os biocombustíveis são produtos energéticos, que tem sua matéria prima proveniente de seres vivos ou de resíduos gerados por eles, tendo que apresentar as seguintes características para sua viabilidade técnica: ser competitivo economicamente e o mínimo agressivo possível ao meio ambiente (MAHLIA et al., 2019).

Nisso a produção de biodiesel proveniente do óleo de palma ganha destaque como um bom exemplo de biocombustível. O biodiesel é obtido através do processo de transesterificação do óleo extraído do fruto, onde triglicerídeos viram ácidos graxos na presença de metanol ou etanol como catalisadores (KANIAPAN et al., 2021). Isso vem trazendo, um crescimento do produto do biodiesel brasileiro no mercado mundial de produção, devido os investimentos na pesquisa e desenvolvimento de maneiras mais limpas de gerar energia (SOUSA et al., 2017). Atualmente a produção de biodiesel proveniente do óleo de Dendê é uma das mais usadas no

mercado nacional de biocombustível, superada apenas pelo álcool gerado a partir da sacarose da cana de açúcar (BRAZILIO et al., 2012). Isso ocorre pelo alto teor de óleo retirado do dendê, o tornando uma das melhores opções para a produção de biocombustíveis (DE ASSIS COSTA et al., 2021).

Além disso, subprodutos derivados da planta, como a biomassa do dendezeiro, ganham cada vez mais importância. Esse material residual orgânico é proveniente dos resíduos das atividades industriais da extração do óleo. Apresentando um grande potencial para a geração de bioenergia e bioprodutos (ONOJA et al., 2019; SEKERI et al., 2020).

Outro subproduto importante da produção de óleo de dendê é o *Palm Oil Mill Effluent* (POME). Diferente da biomassa, o POME se caracteriza por ser um resíduo líquido, resultado do processamento do óleo vegetal nas fabricas. Sua composição é extremamente rica em nutrientes como fósforo, nitrogênio, potássio e matéria orgânica. O POME vem despertando muito interesse como uma fonte potencial de bioenergia e biofertilizantes, levando a busca por valorizar esse produto e reduzir os impactos ambientais da indústria do dendê, o tornando uma alternativa promissora para praticas mais ecologicamente viáveis (ONG et al., 2021).

O *Elaeis guineensis*, também dispõe de uma grande relevância ambiental. Durante seu longo período de vida as plantas assimilam toneladas de dióxido de carbono (CO<sup>2</sup>) da atmosfera, além disso apresenta uma boa assimilação de dióxido de carbono por área plantada, contribuindo significativamente para redução da pegada de carbono do Brasil (RIVERA-MÉNDEZ et al., 2017). Várias pesquisas avaliaram a pegada de carbono do dendezeiro e constataram que o cultivo do dendezeiro aliado a boas práticas ambientais, pode resultar em uma significativa redução na emissão de gases de efeito estufa na produção do biodiesel, em comparação a emissões dos combustíveis fósseis (RAMIREZ-CONTRERAS et al, 2017; SILALERTRUKSA et al., 2017).

Apesar do alto lucro, a produção agrícola atualmente ainda está muito atrelada ao uso de fertilizantes químicos em larga escala. Sendo praticamente indispensáveis para a prática dessa cultura, levando ao aumento de custos e a danos ambientais (SOUSA et al., 2015). A fertilização excessiva de plantações de dendê, apresenta efeitos deletérios ao meio ambiente, como emissão de gases de efeito estufa, perda de nutrientes por lixiviação, danos ao ciclo biogeoquímico e redução da biodiversidade (HASSLER et al., 2017; CORRE et al., 2010). Além disso, Darras et al. (2019), aponta que a otimização do uso de insumos agrícolas, poderia

ser muito vantajosa, pois possibilitaria a criação de micro-habitat, redução da lixiviação, redução dos danos a diversidade biológica do ecossistema e aumento da rentabilidade.

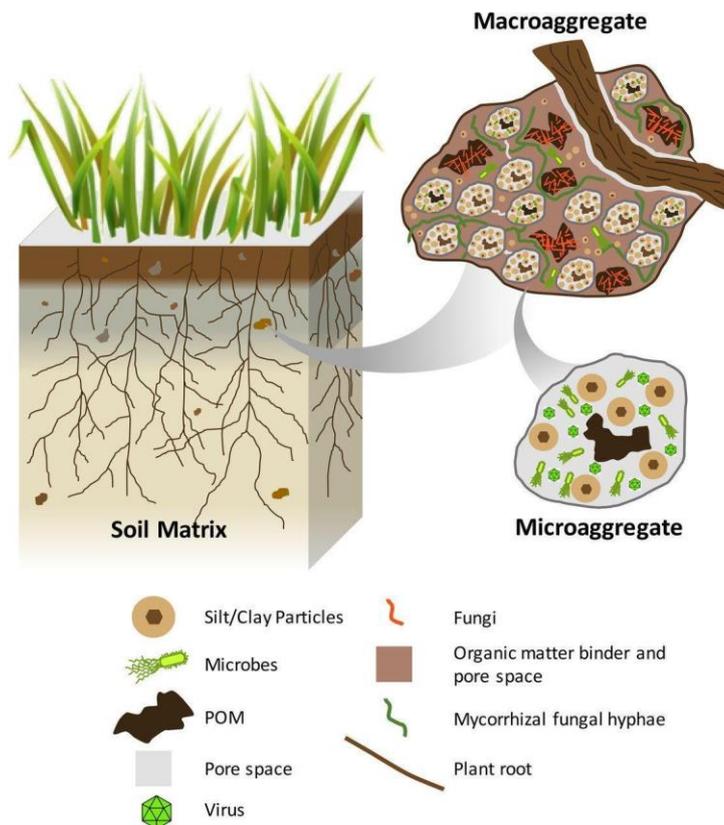
Nesse contexto, a busca pela maior produção e a redução do uso desses fertilizantes químicos, bem como aumento na produtividade, tem gerado cada vez mais estudos voltados para meios alternativos de manejo, como as bactérias promotoras de crescimento (LOPES et al., 2021).

#### **4.3 Diversidade microbiana do solo**

O solo se apresenta como uma matriz tridimensional estruturada em pequenos agregados compactos e porosos, que interagem e trocam substâncias entre si em períodos de molhamento (WILPISZESKI et al., 2019). Sua constituição não é uniforme e apresenta variáveis como teor de água, abundância de oxigênio, quantidade de nutrientes, temperatura, granulometria e tamanho de agregados. Essas características somadas ao clima criam as condições que definem a estrutura e funcionalidade das comunidades microbianas do solo (EBRAHIMI & OR D, 2016; PARRY, 1999).

Os microrganismos são o grupo de seres vivos com maior biodiversidade e abundância no ecossistema terrestre, como ilustrado na Figura 2 (SHEN et al., 2021). Esses organismos são um grande componente do solo, que pode apresentar aproximadamente  $10^4$  espécies de organismos por grama de solo (GRIFFITHS, B. S., AND LAURENT, 2013). Uma grande parcela de biomassa microbiana se apresenta nas primeiras camadas superficiais do solo, até os primeiros 40 cm de profundidade. Sofrendo um decréscimo à medida que a profundidade dos horizontes vai aumentando (EILERS et al., 2012).

**Figura 2:** Microrganismos presentes no solo.



Fonte: GRIFFITHS; LAURENT, 2013, P.3.

A relevância dos micróbios para os ecossistemas do solo se evidencia em sua indispensável participação dos processos biogeoquímicos do solo. (GRAHAM, 2016). Suas atividades biológicas interagem com metais e minerais naturais, além de disponibilizar biominerais como o carbonato de cálcio, silicatos e óxidos para outros organismos. A ação desses organismos muda as propriedades orgânicas e inorgânicas moldando as características bioquímicas do solo (GARDD, 2010).

Organismos como arqueias, fungos e bactérias são fundamentais para realizar a ciclagem de nutrientes no solo participando de processos como decomposição da matéria orgânica, degradação de moléculas estruturais como a celulose, e a formação de substâncias antibióticas (CLINE et al., 2017). O ciclo do carbono por exemplo, é um ciclo biogeoquímico fortemente influenciado pela presença de fungos, que ao participarem do processo de decomposição, tornando o C presente nas células de animais e vegetais mortos, disponíveis outra vez no ambiente, tornando o elemento disponível para o uso de outros seres vivos (LI, 2016).

Uma biota microbiana estável está intimamente relacionada à disponibilidade de minerais e nutrientes no solo, sendo importantes até no uso eficaz de fertilizante de Nitrogênio (N) e Fosfato (F). Isso ocorre porque, mesmo se houver uma boa quantidade de compostos nitrogenados e fosfatados, eles muitas vezes se encontram em estados que não podem ser aproveitados pelas plantas, ficando imobilizados no solo requerendo a participação microbiana, para a afetividade do fertilizante (TRAORÉ, 2020).

Ao tratar sobre a interação planta-microrganismos. Alguns fungos e bactérias ganham destaque por estabelecerem uma relação mutualista, convertendo composto para sua forma biodisponível, para as plantas, que em troca, cria um microambiente favorável para essas comunidades sobreviverem (CHENG, 2019). Além disso, muitas pesquisas indicam que alguns microrganismos no solo são capazes de aumentar a capacidade de absorção de nutrientes de plantas e influenciar diretamente no metabolismo vegetal (DINI-ANDREOTE & RAAIJMAKERS, 2018).

Muitos estudos vêm buscando entender a influência da composição microbiana do solo, apontando como um componente-chave para o funcionamento saudável dos ecossistemas terrestres. Por exemplo, o trabalho realizado por Fierer et al (2012) ao investigar a diversidade genômica do solo identificou uma ampla gama de funções metabólicas associadas a esses microrganismos. Já Delgado-Baquerizo et al. (2016) aponta que a estrutura e a dinâmica de das comunidades de micróbios do solo em diferentes regiões geográficas. Essas descobertas apontam a relevância de se considerar esse fator para desenvolver uma boa estratégia de manejo agrícola.

A percepção das atividades benéficas dos microrganismos no desenvolvimento e produção da planta, levou a utilização de métodos biológicos para promover as qualidades do solo buscando o aumento da produtividade de cultivos de interesse (MIRANSARI, 2013). Essas abordagens têm sido amplamente exploradas como uma estratégia sustentável capaz de otimizar os processos de crescimento da planta, maximizando o aproveitamento dos nutrientes disponíveis no solo.

#### **4.4 Bactérias benéficas às plantas**

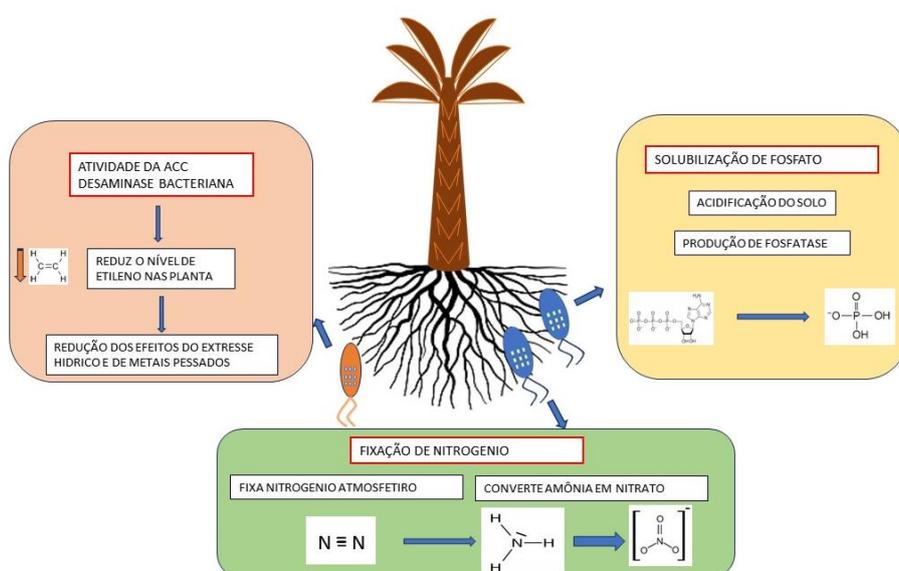
Na história recente muitos estudos foram voltados para compreender a dinâmica entre plantas e bactérias. Porém a maioria focava nas propriedades patogênicas das bactérias deixando oculto os benefícios dessa interação para as plantas (JACOBY et al., 2017). Porém o

ciclo de vida de uma planta envolve diversas interações diferentes com diferentes tipos de microrganismos em seu ecossistema. Estabelecendo relações de competição, exploração, mutualismo e comensalismo, com organismos, como bactérias, fungos, protistas e animais. Nesse sentido, recentemente vem surgindo novas pesquisas que buscam investigar as vantagens da interação interespecífica bactéria-planta (SANTOYO et al., 2014).

Nesse cenário percebeu-se que muitas plantas estabelecem relações mutualísticas com alguns microrganismos, onde ambos têm vantagens. Um grupo desses organismos que se destaca são as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) que são capazes de se estabelecer em uma relação com as plantas favorecendo o desenvolvimento e a saúde vegetal, a subsistência da bactéria. (BABALOLOLA et al., 2010; SOUZA et al., 2015; Zhang et al., 2020).

A forma de atuação das BPCV, apresenta dois tipos mecanismos de atuação na promoção de crescimento vegetal: os mecanismos diretos, que consiste na disponibilização ou facilitação da obtenção de macro e micronutrientes, e produção de fitormônios (Figura 3) e dos mecanismos indiretos, relacionados a competição dessas contra patógenos, ou seja, atual biocontrole (RAMAKRISHNA et al, 2019).

**Figura 3:** Mecanismos diretos de promoção de crescimento feito por bactérias promotoras de crescimento: Atividade da enzima acc deaminase; solubilização de fosfato; fixação biológica de nitrogênio.



Fonte: Autor (2022)

Os mecanismos diretos das BPCV ocorrem através do aumento da disponibilidade de macro e micronutrientes no solo. Nesse sentido, existem os micróbios capazes de realizar

solubilização de macronutrientes para o bom desenvolvimento das plantas. Muitas delas estão associadas na solubilização de fosfato, elemento que apresenta diversas funções nas plantas, de forma que sua falta pode levar a várias deficiências e suscetibilidade a infecções e doenças (FASUSI et al., 2021). A matéria orgânica em decomposição é a maior fonte de fosfato no solo, porém está na forma indisponível, tendo que passar para o estado inorgânico para ser utilizada pela planta (ALORI et al., 2017). Em uma avaliação realizada com raízes de dendezeiro africano, foram identificadas três bactérias com alto índice solubilização de fosfato de cálcio gêneros *Klebsiella*, *Staphylococcus* e *Burkholderia* grupos importantes para o setor agrícola (ACEVEDO et al., 2014).

O nitrogênio disponível no solo se encontra na forma orgânica e inorgânica, em uma distribuição heterogênea no solo. A mudança de um reservatório de nitrogênio para outro tipo, através da ação fixadoras de microrganismos do solo representam um processo muito importante para a nutrição das plantas. Os microrganismos convertendo o nitrogênio da amônia ( $\text{NH}_4^+$ ) em nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) que pode ser absorvido pelas raízes das plantas.

Outro mecanismo direto que se destaca nesse cenário é a produção de metabólitos secundários como enzimas, e fitormônios no solo, capazes de influenciar no desenvolvimento e saúde das plantas. A produção de 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico deaminase (ACC deaminase) é um importante mecanismo de redução de estresse. Essa enzima sintetizada por alguns micróbios, são capazes de realizar a quebra do etileno, um fitormônio gasoso, que em grandes quantidades, é um indicador de estresse vegetal, que pode limitar o crescimento e floração da planta (JASIM et al., 2013).

Outra estratégia importante é o uso de mecanismos secundários de promoção de crescimento, através da competição por nicho ecológico realizada pelas BPCV. Onde o recrutamento de bactérias para o biocontrole de fitopatógenos, induzindo a resistência sistêmica em plantas hospedeiros por meio de metabólitos, produtos químicos, enzimas e até mesmo antibióticos, que retardam ou inibem o estabelecimento de agentes patógenos no hospedeiro (SARAF, 2014; COMPANT, 2005). Em estudos realizados com inoculação com *Streptomyces corchorusii* UCR3-16 em plantas de arroz (*oruyza sativa*), contaminada com fungos, houve grande atividade biocontrole especialmente contra o fungo *Rhizoctonia solani* (TAMREIHAO et al., 2016).

Existem várias comunidades de micróbios que colonizam, folhas, caules, flores e frutos. Porém, as BPCV são muito mais comuns nas raízes das plantas (rizomicrobioma) e se apresenta

em duas comunidades distintas: a rizobactérias e as endobactérias (MSIMBIRA & SMITH, 2020).

As rizobactérias, residem no solo, em uma região chamada de rizosfera, onde acontecem importantes interações bioquímicas e ecológicas entre os microrganismos do solo e das raízes, como uma forma de interface interativa mutualista (ALEMNEH et al., 2020). Esse microambiente entre planta e solo apresenta compostos chamados de exsudatos que interagem nos primeiros da 1mm dessa interface, servindo como fonte de nutrientes e energia para os microrganismos presentes nesse solo (WANG, 2018; LI, 2016).

No interior das raízes das plantas, existem as bactérias endófitas, que são capazes de viver em uma relação mutualista se instalando e sobrevivendo no interior dos seus tecidos (DE OLIVEIRA *et al*, 2020). Essa relação com bactérias endófitas pode levar à promoção de crescimento; produção de substâncias antimicrobianas; produção de bioestimulantes e fitohormônios (TIAN et al., 2017).

Muitos desses organismos são fundamentais para o desenvolvimento adequado da planta. de forma que muitas plantas apresentam em suas sementes assembleias de microrganismos para passá-los de forma vertical para as próximas gerações (REZKI et al., 2016). As interações entre rizobactérias e plantas, presentes na rizosfera e na endosfera, é responsável por vários processos de fortalecimento e estímulo ao crescimento das plantas fornecendo nutrientes, fito hormônios, carbono e fosfato (PERSELLO-CARTIEAUX et al, 2003; OTLEWSKA, 2020). Sabe-se que a atividade microbiana está diretamente relacionada com a disponibilidade de nutrientes. Na natureza 90 % do nitrogênio do solo está em sua forma orgânica, indisponível para as plantas, de forma que as bactérias fixadoras de nitrogênio, realizam o processo de mineralização de nitratos e fixação de nitrogênio atmosférico (PII et al., 2015).

Essa aplicação se mostra proveitosa até em formas de cultivo alternativas. Em um experimento realizado com hidroponia de *Leucadendron salicifolium*, *Viminaria juncea* e *Lupinus albus* as bactérias provocaram um aumento de até 10 vezes no peso total com 7 bactérias diferentes, em comparação às plantas sem tratamentos (LAMONT & PÉREZ-FERNÁNDEZ, 2016).

A colonização da planta por bactérias é fundamental para estabelecer uma relação mutualística entre eles. Nesse processo as plantas atraem os microrganismos ao entorno das raízes usando exsudatos, como carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos e outros nutrientes,

que funcionam como uma fonte de nutrição para bactérias, a atraindo para esse ambiente (COMPANT et al., 2010). Ao chegar na raiz se inicia uma troca de informações químicas que regulam a resposta imunológica da planta para permitir o estabelecimento do microrganismo (CHAGAS et al., 2018). Caso não sejam reconhecidas como bactérias benéficas, às plantas atacam tal como atacam fitopatógenos, expressando respostas imunológicas para neutralizá-las e impedem a formação de colônias (HUANG et al., 2014).

Nisso é necessário um formas de sinalização Planta-bactérias, que serve para regular a resposta imune a ou evitam o processo de reconhecimento das defesas do hospedeiro, deixando favorecer a formação da colônia de bactérias (ZIPFEL, & OLDROYD, 2017). Por isso existem várias redes de regulação das plantas para os organismos estabelecidos, existindo uma grande variedade de compostos que funcionam como um sistema de comunicação entre planta e micróbio (SANTOYO et al., 2014).

As plantas são capazes de crescer em solos contaminados usando várias estratégias para lidar com o estresse ambiental. Vários estudos apontam que uma forma de remediação pode ocorrer com o uso de bactérias promotoras de crescimento, na promoção de uma maior resistência ao estresse biótico e abiótico (KHALID et al., 2017). Algumas BPCV mostram a capacidade de combater o efeito inibidor de crescimento, causado pela contaminação de plantas por metais pesados como zinco, cádmio e paládio (SANTOYO et al., 2016).

#### **4.5 Biofertilizantes**

A busca pelo aumento na produtividade agrícola, somado ao desenvolvimento de conhecimentos mais aprofundados sobre as relações entre plantas e micro-organismos, levou a elaboração de novas tecnologias que fazem uso desses conhecimentos para aumentar a produção da planta. Visto que, mesmo com o uso de fertilizantes artificiais, o sistema produtivo tende a ter uma perda significativa de compostos de elementos para meio, levando a um grande desperdício de recursos, encarecendo o produto final e diminuindo sua lucratividade (ROSE, 2014).

Nesse contexto, o estudo de bactérias promotoras de crescimento quando aplicado na indústria, busca desenvolver uma tecnologia chamada de biofertilizante, que em conjunto ou substituindo completamente os fertilizantes químicos, são capazes de promover uma melhora no desenvolvimento da planta (YU et al., 2019). Os biofertilizantes, são micróbios que buscam corrigir o baixo índice de absorção de nutrientes de uma planta, usando mecanismos como aumento da superfície de acesso da raiz, fixação de nitrogênio, solubilização de P e produção

de sideróforo (BACKER et al., 2018). Esses inoculantes possibilitam a criação de um microecossistema de solo, rico em bactérias promotoras de crescimento, que interaja com as plantas explorando toda a capacidade de assimilar os nutrientes à disposição (VERBURG et al., 2021).

A criação de um inoculante capaz de alterar a rizosfera requer uma boa formulação para atender as necessidades da lavoura, tendo que apresentar as seguintes características: deve ser biodegradável e não poluidor; deve permitir a adição de nutrientes; resistência aos processos de ajuste de pH, a matéria-prima de formulação deve ser acessível e com custo baixo; permitir um bom período armazenamento em prateleira e apresentar resistência a diferentes estresses no cultivo (KOUR et al., 2020).

No Brasil a tecnologia dos inoculantes, que se desenvolveram, fazem muito uso de rizobactérias. Esse grupo de bactérias é capaz de estabelecer uma relação mutualista com as raízes das plantas, promovendo a fixação de nitrogênio no solo e aumentar a taxa de absorção de nitrogênio da planta, podendo ou não criar nódulos nas raízes das plantas (BOMFIM et al., 2021). Esses organismos pertencem à família *Rhizobiaceae*, possuem vários gêneros destacados pela atividade em plantas, como *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradirhizobium*, *mesorhizobium* e *Sinorhizobium* (FASUSI et al., 2021). Nesse contexto um inoculante se destaca, o BACSOL.

O BacSol é um fertilizante orgânico 100% natural composto de microrganismos, como fungos e bactérias, que são benéficos ao solo e à planta. Os biofertilizantes se encontram na forma de esporo, de forma a entrar em intensa reprodução em contato com o solo (MONTEIRO & AUER, 2012). A aplicação recomendada pelo fabricante consiste em realizar a mistura com as sementes ou associado à calda de pulverização. O produto BACSOL consegue introduzir no ecossistema microrganismos do gênero *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nitrosomona* e *Nitrobacter* que são capazes de ativar uma série de transformações fundamentais para o bom desenvolvimento da planta e conservação das propriedades desejáveis ao solo (MONTEIRO, 2013). Inicialmente projetado para o milho e soja, o BACSOL já mostrou resultados promissores em outras plantas como eucalipto e erva-mate (HOPPE et al., 2005; MONTEIRO & AUER, 2012);

O BiomaPhos é a primeira tecnologia de dissolução de fósforo elaborada no Brasil. É um inoculante líquido recomendado para tratamento de sementes ou aplicado em sulcos de semeadura por pulverização direta. Tendo sido desenvolvido usando tecnologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), com o objetivo de aumentar a eficiência do

uso do fosforo pelas plantas utilizando microrganismos associados as raízes das plantas (OLIVEIRA et al., 2020). Quando utilizado via tratamento de sementes ou sulco de semeadura, o BiomaPhos se associa à planta desde o início da formação das raízes. As bactérias presentes no produto se multiplicam e colonizam a rizosfera da planta (OLIVEIRA-PAIVA, 2021a).

O processo de inoculação estabelece exemplares das cepas BRM 119 (*Bacillus megaterium*) e BRM 2084 (*Bacillus subtilis*), essas bactérias pertencentes ao gênero *Bacillus*, são associados a promoção de crescimento de plantas devido a capacidade de produção de diferentes ácidos orgânicos e a solubilização de fosfato, cálcio, alumínio e potássio, bem como realiza biocontrole de patógenos (OLIVEIRA-PAIVA, 2021b).

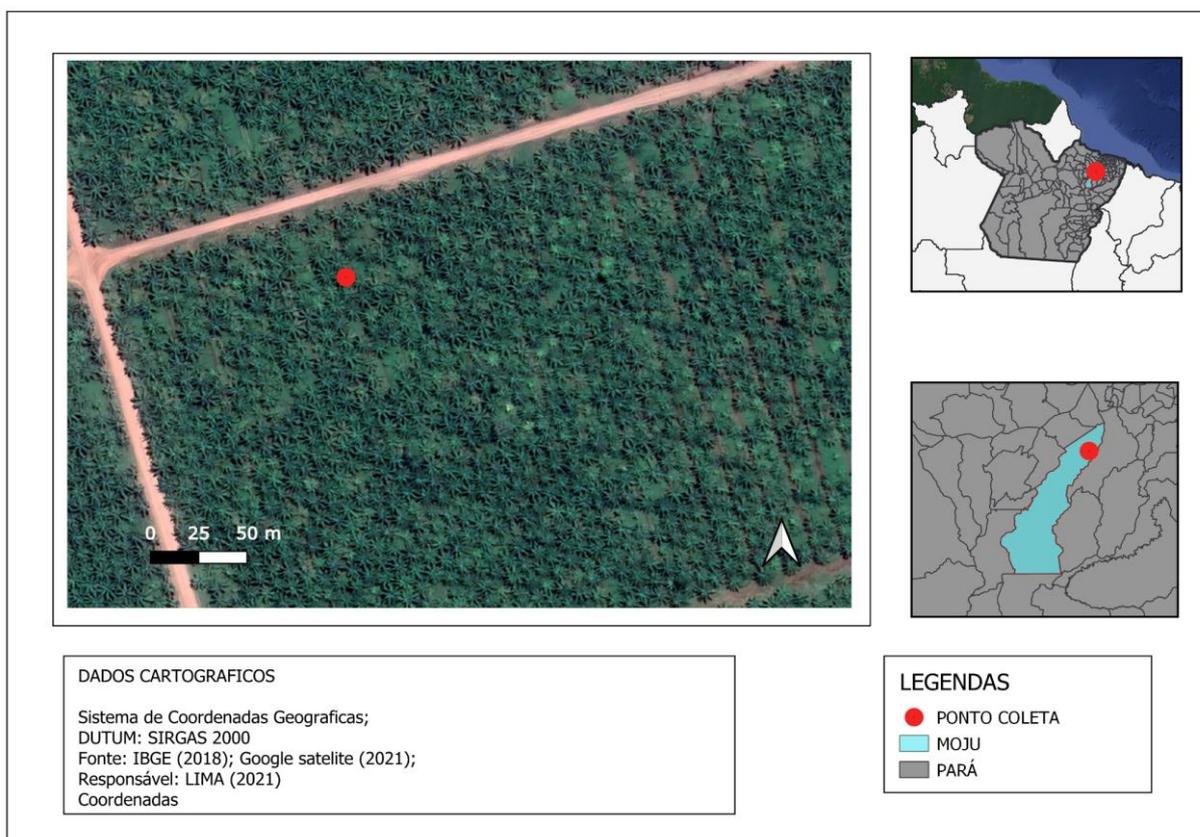
O uso na cultura do dendezeiro se mostra uma grande necessidade, visto que o uso de biofertilizantes pode levar a uma diminuição do uso de fertilizantes químicos na cultura. Em um estudo feito com plântulas de dendezeiro africano, a aplicação de quatro tipos de biofertilizantes, reduziu em 25% o fornecimento de fertilizantes minerais, foi percebido um crescimento de 27% a 12% da altura dos espécimes bem com maior perímetro, teor de clorofila e absorção de nutrientes (GAJENG et al., 2020).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Área de coleta

O experimento foi realizado sob condições de campo, em uma lavoura de dendê (*Elaeis guineensis* Jacq), com aproximadamente 20 anos de idade, em Moju (1, 97; FIGURA 4), Pará. A região possui clima tropical húmido, com temperatura e precipitação média anual de 26 °C e 2600 mm, respectivamente. As plantas vêm sendo cultivadas a pleno sol, sob espaçamento 9x9x9 m; ocorreu a aplicação de POME, resíduo da indústria do processamento dos frutos do dendê, no espaço de entrelinhas das plantações do dendezeiro. Os tratos culturais aplicados são os recomendados para a cultura do dendê na região. Foram coletados amostras de solo com raízes em 6 pontos (n= 6) a uma distância de 1 m, a partir da estipe da palmeira, e profundidade de 10 cm da superfície, a extração do solo foi realizada com auxílio de um trado calador e acondicionada em sacos plásticos (ziplock), e transportadas para o laboratório do Centro de Genômica e Biologia de Sistemas da Universidade Federal do Pará (UFPA) em Belém do Pará e conservados em temperatura ambiente.

**Figura 4:** Mapa da localização da área de coleta



Fonte: Autor (2023).

## 5.2 Isolamento de bactérias associadas à raiz de dendezeiro.

As amostras de raízes obtidas, foram submetidas ao processo de isolamento de bactérias de acordo com o descrito por Fidalgo et al, (2016), foram selecionados três amostras de solo com raízes, o excesso de solo foi lavado com corrente água, cada fragmentos de raízes foi então submetido a um processo de lavagem nas seguinte etapas: 1º-solução salina de cloreto de sodio (95%) por 10 min; 2º- em etanol (96%), por 10 min; 3º- solução hipoclorito de sódio (5%) por 30 min; 4º - macerar o material em um cadinho e lavar com solução de cloreto de sódio (95%). As soluções resultantes da primeira etapa e quarta etapa, foram coletadas e submetidas a diluição seriada de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ . Desse material obtido foram selecionadas 3 diluições de cada amostra para ser espalhadas  $10 \mu\text{g}$  da solução em meio solido TSA suplementado com ciclohexamida  $100\mu\text{g mL}^{-1}$ , para evitar fungos, totalizando cerca de 9 placas de meio de cultural inoculados.

A partir das placas cultivadas com as diluições de solo. Foi realizado a extração das colônias distintas, por meio de alça de 10 µL, e replicadas em novas placas de meio sólido, através da Técnica de isolamento por esgotamento, e acondicionadas em estufa a 28°, por 48 horas. Posteriormente as bactérias foram submetidas a análise de gram, para ser conservadas em solução de 25% de glicerol em temperatura de -20 °C.

### **5.3 Investigação da atividade BPCV das cepas**

Após o período de cultivo das bactérias, as colônias isoladas foram observadas quantos a produção de indicadores químicos de atividade promoção de crescimento em plantas.

#### **5.3.1 A atividade ACC deaminase**

O ensaio da atividade ACC deaminase foi realizado usando método de Penrose e Glick, (2003). Os isolados cultivados em meio TSB (O Trypticase Soy Broth) e, posteriormente, lavadas usando solução salina (cloreto de sódio 95g por mL) (0,95%), centrifugadas a 10.000 rpm (12298 G.) por 5 min, e as células suspensas na solução ajustada para MacFarland 0,5%. Posteriormente 10 µL da solução foi cultivada em três tipos diferentes de meio sólido: Teste (T)- em meio mínimo suplementados com 3 mM de ACC como única fonte de nitrogênio; Controle positivo (C+) - meio suplementado com 2 g L-1 de sulfato de amônia (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>; Controle negativo (C-) - utilizando nenhuma fonte de nitrogênio. Os isolados que apresentaram crescimento tanto em meio T e C+, não se desenvolvesse em C- em um intervalo de 24h, foi considerada como tendo atividade da enzima ACC deaminase.

#### **5.3.2 Detecção de fosfato**

A avaliação da capacidade de solubilização pelas bactérias será realizada pelo método de Nautiyal (1999). Os isolados serão cultivados em meio TSB sob agitação e as células serão lavadas com solução salina e centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos. O sedimentado será suspenso em 500 µL de solução salina de cloreto de sódio (95%), ajustado para MAcFarland 0,5%. Para a avaliação da solubilidade de fosfato foi utilizado meio NBRIP sólido, suplementado com fosfato de cálcio Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Onde cada placa foi inoculados com 10 µL de solução com isolados da cultura em triplicatas, acondicionados em estufa em temperatura de 28 °C. Após o intervalo de 5 a 7 dias foi realizado a estimativa do percental de solubilização de fosfato, pela divisão do diâmetro do halo pelo diâmetro das colônias multiplicado por 100.

### 5.3.3 Detecção de gene da enzima nitrogenase (nifH)

O gene de subunidade dinitrogenase redutase da enzima nitrogenase (nifH) será detectado por PCR com os primers específicos IGK3 (5'-GCIWHTHTAYGGIAARGGIGGIATHGGIAA-3') e DVV (5'-ATIGCRAAICCCRCAIACIACRTC-3'), desenvolvidos por Gaby e Buckley (2012). A reação será realizada com o kit GoTaq Green Master Mix (promega), seguindo as recomendações do fabricante. Nas proporções de: 6,25 µL Gotaq Green Master Mix; 0,5 µL Primer IGK3 (5ng/µL); 0,5 µL Primer DVV(5ng/µL); 4,25 µL água ultra pura; 0,5 de DNA em concentração de 5 ng/µL. Com o 30 ciclo de amplificação seguindo a seguinte configuração, desnaturação de 95 C°-2 min/95°C-1min; anelamento 55°C; e, extensão 72°C – 1min/72°C – 5min. mplificação, os produtos de PCR serão avaliados por eletroforese em gel de agarose 1% para visualização de um fragmento de 345 pb. Usando como peso molecular o padrão Lader 2000 pb .

### 5.3.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento do gene RNA ribossomal 16s

Para realizar a caracterização morfologia dos isolados através da coloração de Gram. A extração do DNA das placas com potencial para promoção de crescimento foi realizada através do método de Sambrook (1989), usando solução Fenol:Clorofórmio:Álcool isoamílico (25:24:1). A eficácia do método e integridade do DNA será avaliado através da realização de eletroforese em gel de agarose (1%). Posteriormente os ácidos nucleicos serão quantificados através do espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). Para a identificação da espécie da bactéria será realizado a ampliação do gene RNA robossomal 16s através do primers universais 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e 41492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3').

Cada alíquota apresentara um volume final de 50 µL, contendo 10 ng de DNA molde, em termociclados GeneAmp 9700 (Thermo Fisher Scientific), com o kit GoTaq Green Master Mix (Promega). Os produtos obtidos através da amplificação serão analisados através do sequenciamento realizados plataforma ABI 3500 DNA Analyzer (Thermo Fisher Scientific).

## 5.4 Bioinformática

As sequências do gene do RNA ribossomal 16S serão montadas utilizando o programa Bioedit e identificadas no banco de dados de do NCBI (GenBank). Serão construídas uma biblioteca para cada amostra analisada. O pareamento das leituras serão comparadas no programa DADA2 . MAFFT method –sequencias phix e quiméricas. SILVA 132 <https://www.arb-silva.de/documentation/release-132/> (Quast et al., 2012).

## 6. RESULTADOS E DISCURSÃO

### 6.1 Identificação de isolados

O processo de coleta e isolamento das amostras da rizosfera do cultivo de *Elaeis guineenses* após aplicação de PUME, na empresa Maborges no município de Moju (PA), obteve bons resultados. Dos pontos coletados foram obtidos 80 isolados das bactérias presentes nas raízes de dendê. Desse número apenas 40 conseguiram ser replicadas e conservadas em glicerol.

Porem dos isolados conservados, alguns como os isolados P38 e P39 foram incapacitados após a conservação em glicerol. Já o isolado P40 apresentou um crescimento insatisfatório impossibilitando a realização dos testes *in vitro*.

Dessa forma um total de 37 bactérias foram conservadas em glicerol, e, portanto, puderam passar pela avaliação *in vitro* da capacidade de promover o crescimento vegetal. Dessa 16 foram selecionadas para análise filogenética.

**Tabela 1:** Bactérias obtidas isoladas na rizosfera de dendezeiro, e suas características promotoras de crescimento.

Isolado	Afiliação taxonômica	BLAST máximo de identificação	Atividade ACC desaminase	nifH3	Percentual de solubilização de fosfato
P1	<i>Enterobacter hormaechei</i>	98.48%	*	–	260%
P2	<i>Enterobacter sp.</i>	98.15%	-	–	224%
P3			-	–	138%
P4			*	–	141%
P5			*	–	0
P6			*	–	190%
P7	<i>Klebsiella variicola</i>	98.87%	-	+	154%
P8			-	–	163%
P9			-	–	130%
P10			-	+	135%
P11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	97.93%	+	–	231%
P12			-	–	126%
P13			*	–	x

P14	<i>Enterobacteriaceae bacterium</i>	99.26%	-	-	255%
P15	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	96.11%	-	-	245%
P16			+	-	190%
P17	<i>Klebsiella sp</i>	96.95%	-	+	160%
P18	<u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u>	98.37%	-	+	160%
P19			*	+	135%
P20	<u><i>Priestia megaterium</i></u>	99.39%	+	-	228%
P21	<u><i>Microbacterium paraoxydans</i></u>	99.30%	+	-	244%
P22	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99.79%	+	-	230%
P23			+	-	x
P24			*	-	0
P25	<i>Lysinibacillus sp.</i>	95.14%	+	-	253%
P26			-	-	0
P27	<i>Uncultured Pectobacterium sp</i>	99.21%	+	+	x
P28			-	-	237%
P29			-	-	0
P30			*	-	x
P31			*	-	250%
P32			-	-	x
P33			-	-	200%
P34			-	-	247%
P35	<i>Rossellomorea marisflavi</i>	99.13%	+	-	238%
P36	<i>Achromobacter sp.</i>	96.12%	*	+	330%
P37	<i>Rossellomorea marisflavi</i>	99.22%	+	-	200%
P38	X	x	X	x	x
P39	X	x	X	x	x
P40	X	x	X	x	x

Fonte: Autor (2023).

Devido aos bons resultados nos testes para determina a capacidade de promover crescimento, 16 bactérias foram selecionadas para realizar a amplificação do gene RNA ribossomal 16S e identificação por meio de BLAST com base no banco de dados do Nacional center for Biotechnology Information (NCBI).

Todos os isolados são pertencentes ao domínio Bactérias, classificados no filo actinobactéria. Distribuídos em 9 gêneros: (5) *Klebsiella*, (3) *Enterobacter*, (2) *Rosellomarea* (1) *Priestia*, (1) *Microbacterium*, (1) *Bacillus*, (1) *Lysinibacillus*, (1) *Pectobacterium*, e (1) *Achromobacter*.

Nesse estudo, a o BLAST da amplificação do gene rRNA ribossomal 16s revelou a prevalência três gêneros: *Klebsiella sp.*, *Enterobacte* e *Rosellomarea*. Os outros gêneros, apresentaram apenas 1 representante de cada grupo. O espécime isolado do gênero *Pectobacterium sp.*, ainda não caracterizado em laboratório, associado a doença da canela preta e podridão mole em tubérculos de batata (*S. tuberosum*), nesse presente trabalho esse organismo apresentou o gene nifH3 e atividade ACC deaminase (PADILLA-GÁLVEZ, et al. 2021).

Os grupos *Enterobacter*, *klebsiella* e *Bacillus*, encontrados nesse estudo, são comumente associados a capacidade promotora de crescimento, geralmente apresentando vários mecanismos de fixação de elementos e produção de fitohormônios. Também fazem parte do grupo de gêneros mais comumente encontrados tanto em leguminosas quanto nas não leguminosas (OZDOGAN et al. 2022). Além disso, são relatadas não apenas na promoção de crescimento, mas também na capacidade de aumentar a resistência a estresse hídrico e salino, bem como na desintoxicação de metais (DHAWI, 2023).

O gênero de *Enterobacter* já mostrou ótima relação na atividade de promoção crescimento com plantas de juçara (*Euterpe edulis Mart.*), também pertencente a da família *Arecaceae*, promovendo a produção de biormônios e solubilização de nutrientes (DE CASTILHO et al, 2020). Já estudos feitos por JANA & YAISH, (2020) mostraram como a atividade da *Enterobacter cloacae* permitiu uma maior resistência a estresse salino nas plantas de tamareiras.

O gênero de *Klebsiella*, vem sendo recentemente apontado como ótimos exemplos utilizados na agricultura. Vários estudos como o realizado por Gupta et al., (2020), mostrou que a influência positiva dessa bactéria no aumento do crescimento do comprimento da raiz, na absorção de nutrientes, no aumento dos pigmentos fotossintetizantes e resistência a metais pesados como o cromo. A *Klebsiella pneumoniae*, já demonstrou causar resistência contra nematoide *Heterodera glycines* em plantações de soja, além de estimular a resistência contra contaminação de cádmio em mudas de arroz (LIU et al., 2018; PRAMINIK et al., 2017).

A presença de representantes do gênero *Bacillus* é algo já esperado visto que são BPCV muito facilmente encontrados em raízes de culturas de interesse econômico, os seus filós Firmicutes, já foi documentado em culturas de milho, trigo, cana-de-açúcar, amendoim, arroz, soja, Grão de bico e feijão (RANA et al, 2020).

A *Priestia megaterium* encontrada nesse estudo é, desde de sua descoberta, muito associada ao uso em biotecnologia, como biossíntese de pequenas moléculas, proteínas recombinantes e biorremediações (BIEDENDIECK et al., 2021). Em outras pesquisas essa mesma bactéria foi utilizada em vários métodos de controle biológico contra patógenos com *Erwinia amylovora* (causadora do fogo bacteriano), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Fusarium oxysporum* (CUI et al., 2023; LIU et al., 2023). O gênero *Priestia* é descrito como indutor de resistência a estresse principalmente hídrico e salino, além de estudos tendo explorado sua de promover a descontaminação ambiental do pesticida lidano (SINGH & SINGH, 2019).

Os outros gêneros encontrados nesse trabalho também são descritos como possuidores de atividade PCV, porém com menos frequência. Já o gênero *Microbacterium* é um grupo com grande potencial para promover crescimento principalmente na indução de resistência a estresse, estudos vêm sendo promovidos para o uso de cepas desse grupo para a descontaminação ambiental do pesticida lidano (SINGH & SINGH, 2019). Os outros gêneros encontrados nesse trabalho também são descritos como possuidores de atividade PCV porém com menos frequência

O espécime P36 que foi classificado no grupo *Achromobacter sp*, está em um grupo é associado a promoção de crescimento vegetal, principalmente no crescimento das raízes, e demonstrando o crescimento e resistência a estresse salino em plantas de *Arabidopsis* (JIMÉNEZ-VÁZQUEZ et al, 2020). Foi o espécime que apresentou o maior índice de solubilização de fosfato nesse estudo, indicando grande potencia para promoção de crescimento. Já o grupo de *Rosellomorea* foi encontrados em outros estudos associados a promoção de crescimento vegetal, especialmente na capacidade de fixar fosfato inorgânico em plantas de tomateiro (REHAM et al, 2023).

## 6.2 Teste de solubilização de fosfato

O índice de solubilização de fosfato (Pi) foi realizado através dos testes in vitro usando meio de cultura definido, suplementado com fosfato de cálcio. Os resultados eram baseados no diâmetro do halo formado ao redor das colônias, que indicava a capacidade de prosperar convertendo o fosfato inorgânico em fosfato orgânico.

Na investigação da capacidade de solubilização de fosfato, os isolados P13, P23, P27 e P30, não apresentaram crescimento de Colônias detectadas pela metodologia demonstrando dificuldade para se desenvolver nesse meio. Considerando as bactérias P5, P24, P26, P29, P30 e P32, não foi possível observar halo destacado, indicando uma capacidade reduzida de utilizar os  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  como fonte de fosfato.

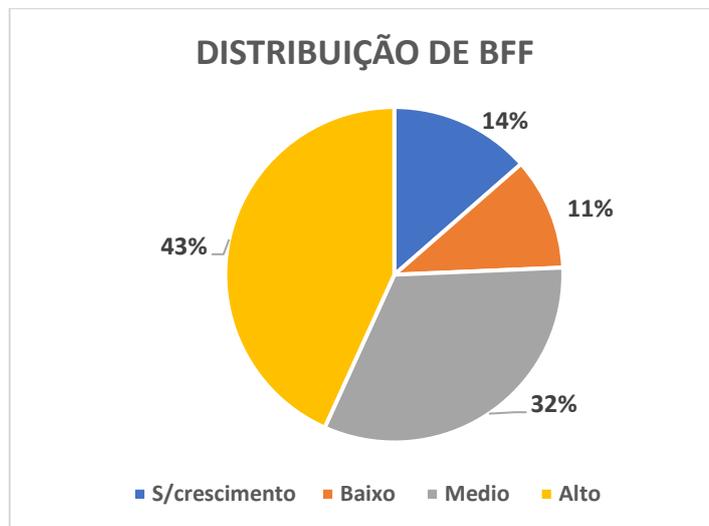
**Tabela 2:** Bactérias de índice alto de solubilização de fosfato identificados.

<b>Isolado</b>	<b>Afiliação taxonômica</b>	<b>Pi</b>
P1	<i>Enterobacter sp.</i>	260%
P2	<i>Enterobacter sp.</i>	224%
P11	<i>Klebsiella sp.</i>	231%
	<i>Enterobacteriaceae</i>	
P14	<i>bacterium</i>	255%
P15	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	245%
P20	<i>Priestia megaterium</i>	228%
	<i>Microbacterium</i>	
P21	<i>paraoxydans</i>	244%
P22	<i>Bacillus thuringiensis</i>	230%
P25	<i>Lysinibacillus sp.</i>	253%
P35	<i>Rosellomorea marisflavi</i>	238%
	<i>Achromobacter sp. KAs</i>	
P36	3-5	330%
P37	<i>Rosellomorea marisflavi</i>	200%

Fonte: Autor (2023).

Dos espécimes com resultados mais altos de solubilização de fosfato, verificou-se uma variação entre 126% e 330% de solubilização, algumas obtiveram um desempenho entre 100% a 200%, como P3, P5, P6, P7, P8, P9, P10 P11, P16, P17, P18, P19. Já Cerca de 12 exemplares obtiveram um desempenho maior ou igual a 200%, (P1, P2, P11, P14, P15, P20, P21, P22, P25, P28, P31, P34, P35, P37. Já o isolado P36, obtiveram um halo superior a 300% cerca de 330% de índice de solubilização de fosfato de cálcio.

**Figura 5:** Distribuição de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) de acordo com seu índice de fixação de fosfato do nutriente



Fonte: Autor (2023).

Dos 37 isolados testados para capacidade de Pi, 14 obtiveram resultados maiores de 200%, e o isolado P36 que atingiu o resultado de 330%, indicando serem bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF). Esses resultados são consistentes com os dados obtidos por Fan & Smith, (2021) em teste in vitro, que posteriormente mostraram resultados promissores de bactérias para promover de crescimento em *Arabidopsis thaliana*. Isso se deve, porque o fosforo é um dos principais elementos minerais indispensáveis para o crescimento da planta, ela tal como o nitrogênio são fatores limitantes para o desenvolvimento da planta, e suas deficiências é um grande problema em 30% a 40% das terras cultiváveis, podendo resultar em baixa produtividade das culturas (ADNAN et al., 2020).

Nesse sentido, as BSF são facilmente encontradas na região rizosfera, fornecendo fosfato para as plantas através de uma estreita relação com elas. A tal ponto que investigações em solo rizoferico pobre em fosfato, realizada por Zutter et al., (2022), demonstrou uma maior diversidade desses organismos, suprimindo a necessidade de suplantar escarcas desse nutriente. As bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) utilizam a secreção de ácidos cítricos, ácidos málicos, ácido oxálico, ácido glucônico e ácido succínico, que são capazes de provocar a solubilização do fosforo orgânico presente no solo. Os ácidos servem como um composto quelante, que produz composto com íons de fosfato de sua forma orgânica, para forma inorgânica. Outra forma importante usada por essas bactérias é a secreção de enzimas fosfatases

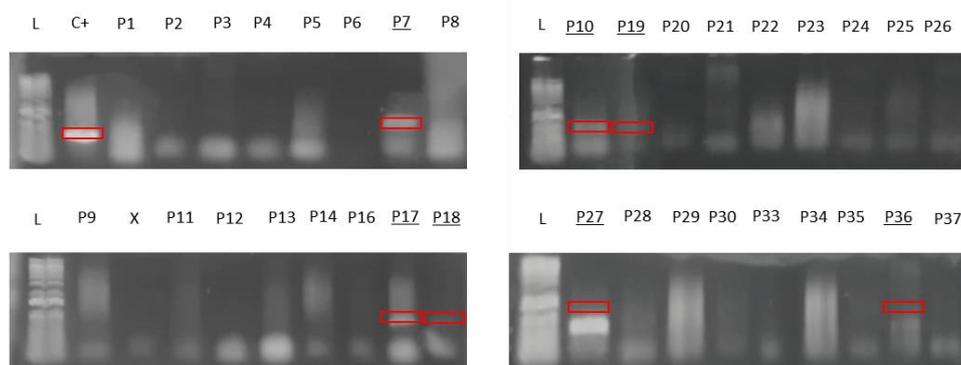
que catalisa a hidrólise desses compostos, principalmente em pH ácido ou neutro (RODRÍGUEZ & FRAGA, 1999; ADNAN et al., 2020).

Através desses processos o índice de P disponível no solo se torna mais abundante reduzindo a necessidade do uso de fertilizantes e aumentando a saúde da planta como um todo (ADESEMOYE & KLOEPPE; 2009). Em estudos feitos com Zainuddin et al., (2021), foi observado que aplicações de biofertilizantes contendo bactérias solubilizadoras de fosfato aplicado em cultivos de dendezeiro, demonstrou ótimos resultados no crescimento vegetativo e produção de óleo, quando aplicado com pequenas doses de fertilizante químico, indicando que o uso de BSF reduziu significativamente a necessidade do uso de fertilizantes químicos.

### 6.3 Teste para presença de gene nifh3

As bactérias da rizosfera foram avaliadas quanto a capacidade de solubilizar nitrogênio do solo através de uma abordagem genotípica. Usando a amplificação por PCR convencional do gene nifH3, responsável pela síntese da enzima nitrogenase.

**Figura 6:** Análise da amplificação do gene nifh3 (Eletroforese vertical em gel de agarose 1%). Em cada canaleta foi aplicada 5 $\mu$ l em géis de agarose de DNA Amplificado por RT-PCR. L - 2 $\mu$ l de ladder (peso molecular 2000). Em vermelho destacado a presença do gene nifH3, nas amostras P7, P10, P17, P18, P19, P27e P36 Na imagem, são apresentados dois géis de agarose com os produtos amplificados do gene nifh3. As bandas correspondem à presença do gene nifh3 em 7 isolados bacterianos.



Entre os isolados bacterianos avaliados, foi possível detectar a presença do gene *nifH3* em sete isolados, sendo eles P7, P10, P17, P18, P19, P27 e P36, representando aproximadamente 18,91% do total das bactérias analisadas. Esses resultados indicam que essas bactérias possuem o potencial para processos de fixação biológica de nitrogênio (BFN). Um mecanismo essencial para a disponibilidade desse nutriente em ecossistemas naturais.

**Tabela 3:** Isolados identificados pelo gene RNA ribossomal 16s com presença de gene *nifH3*.

<b>Isolado</b>	<b>Afiliação taxonômica</b>	<b><i>nifH3</i></b>
P7	<i>Klebsiella variicola</i>	+
P17	<i>Klebsiella sp</i>	+
P18	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+
P27	<i>Pectobacterium sp</i>	+
	<i>Achromobacter sp. KAs</i>	
P36	3-5	+

Fonte: Autor (2023).

Foram identificadas 7 bactérias que apresentam o gene *nifH3* em seu genoma, considerado um indicativo relevante da capacidade da fixação biológica de nitrogênio. O gene *nifH3* é responsável síntese da subunidade redutase da enzima nitrogenase, que desempenha o papel fundamental de conversão do dinitrogênio atmosférico em amônia, que é uma forma de nitrogênio disponível para a utilização das plantas em suas reações metabólicas (ZEHR et al., 2003; GABY E BUCKLEY 2012). Sobre condições ótimas grandes quantidades de N atmosférico são fixadas por BFN, levando a diminuição significativa de produtos químicos para fertilizantes, mesmo em condições úmidas, onde o nitrogênio é mais móvel no solo (MIRANSARI, 2013)

Essa descoberta é consistente com estudos realizados anteriormente por Li et al. (2020), que correlaciona a presença e disponibilidade de nitrogênio no solo, com a presença do gene de síntese da nitrogenase na diversidade microbiana do solo. Já Pereira et al. (2021) em seus estudos destaca que a diversidade genética de bactérias que apresenta o gene *nifH3*, em solos de plantações de cana-de-açúcar representa uma maior qualidade de solo, pois aumenta a possibilidade de encontrar BFN adaptada para a realidade dessa região.

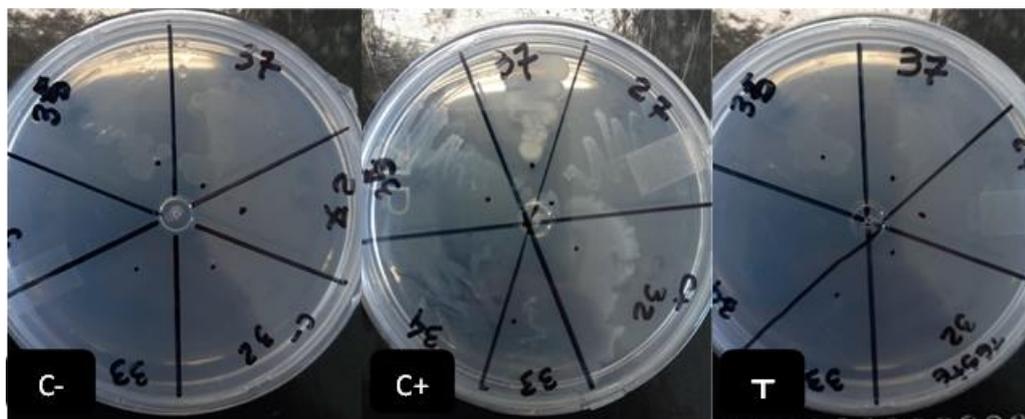
Apesar, desse ser um forte indicativo para a atividade enzimática da nitrogenase a presença do gene *nifH3* não representa se é expressada ou estabelece a quantidade nitrogênio

que a bactérias é capaz de fixar, de forma que apenas teste práticos podem fornecer 100% de certeza da capacidade de solubilizar o nitrogênio.

#### 6.4 Teste de A atividade ACC deaminase

Os isolados testados para atividade de ACC deaminase, foram realizadas em três meios mínimos: um meio sem fonte de nitrogênio, um meio suplementado com sulfato de amônia e outro suplementado com ACC deaminase total. Destas testagens, 10 bactérias não apresentaram crescimento em nenhum dos três meios, o que tornou sua leitura indeterminada. Cerca de 17 bactérias apresentaram crescimento apenas em meio suplementado com sulfato de amônia, como fonte de nitrogênio (Figura 8).

**Figura 7:** Avaliação da produção de ACC deaminase através da comparação do crescimento das colônias das bactérias em três meios mínimos: (c-) controle negativo, sem fonte de nitrogênio; (C+) controle positivo, suplementado com sulfato de amônia como fonte de nitrogênio



Fonte: Autor (2023).

No entanto, 10 bactérias apresentaram crescimento significativo tanto no meio suplementado com sulfato de amônia como em meios suplementados com ACC deaminase. nomeadamente, P11, P16, P20, P21, P22, P23, P25, P27, P35 e P37 (27,07%). Pertencendo aos gêneros *klebsilla sp.*, *Priestia sp.*, *Microbacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *lysinibacillus sp.*, *Pectobacterium sp.*, e *Rossellomorea sp.* como mostrado na Tabela 5. Esses resultados indicam uma capacidade promissora desses isolados em utilizar ACC como fonte alternativa de nitrogênio, permitindo atribuir a produção de ACC deaminase, que exerce um papel importante metabolizando etileno nas plantas.

**Tabela 4:** Isolados identificados com atividade ACC desaminase.

<b>Isolado</b>	<b>Afiliação taxonômica</b>	<b>Atividade ACC desaminase</b>
P11	<i>Klebsiella sp.</i>	+
P20	<i>Priestia megaterium</i> <i>Microbacterium</i>	+
P21	<i>paraoxydans</i>	+
P22	<i>Bacillus thuringiensis</i>	+
P25	<i>Lysinibacillus sp.</i>	+
P27	<i>Pectobacterium sp</i>	+
P35	<i>Rossellomorea marisflavi</i>	+
P37	<i>Rossellomorea marisflavi</i>	+

Fonte: Autor (2023).

O etileno desempenha papéis importantes nos aspectos fisiológicos da planta como o amadurecimento de frutos e a resposta a estresse abiótico e biótico. No entanto, quando sua produção ocorre em níveis excessivos, isso pode resultar em prejuízo ao desenvolvimento das plantas e distúrbios do crescimento, murcha de folhas e diminuição de biomassa.

O encontro de 10 bactérias isoladas que obtiveram resultados positivos no teste qualitativo de produção da enzima ACC desaminase, através da metabolizar ACC como única forma de nitrogênio disponível (SINGH et al., 2015). As bactérias que apresentam produção ACC deaminase são capazes de interromper a produção de etileno, convertendo seu precursor ACC em compostos inativos. O etileno é um fitohormônio muito importante para a fisiologia da planta. Porém sua alta concentração pode em condições de estresse prejudica o desenvolvimento vegetal (GLIK, 2014; ETESAMI & MAHESHWARI, 2018).

Dessa forma, isolados bacterianos que possuem essa capacidade são descritos como potenciais estimulantes do crescimento e desenvolvimento das plantas. Além disso vários estudos apontam bons resultados na utilização BPCV, no aumento de produção de biomassa, resistência a patógenos, resistências a efeitos de estresse biótico e abiótico (DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020).

Nisso, vários estudos atualmente buscam encontrar bactérias que sintetizem ACC deaminase, e obtendo melhoras significativas no crescimento, mesmo quando a planta está sobre estresse hidro ou salino (GUPTA, S., & PANDEY, S. 2019). Estudos realizados por Afridi et al. (2019) com duas variedades de trigo Pasban 90 e Khirman, inoculadas com bactérias produtoras de ACC desaminase do gênero *Bacillus* apresentaram um crescimento significativo quando exposto a um ambiente de estresse salino. Já Sun et al., (2022) observou

um maior crescimento de mudas de milhos expostas a contaminação por Cadmio, quando essas eram inoculadas com uma cepa bacteriana capaz de catabolizar ACC, além de regular os genes ligados a absorção de íons de Cádmiu.

## 7. CONCLUSÃO

Através desse estudo notamos que a rizosfera das plantações de dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq), abriga uma grande diversidade de bactérias dotadas de múltiplas características promotoras de crescimento vegetal. Sendo identificado um total de 16 isolados que apresentam alguma característica que indica promoção de crescimento vegetal in vitro. As bactérias encontradas apresentaram um ótimo índice de solubilização de fosfato inorgânico sendo o maior pi da cepa P36 (*Achromobacter* sp.). Apenas o isolado P27 apresentou capacidade fixadora de nitrogênio e sintetizadora de ACC deaminase, além de ser tida como uma bactéria *Pectobacterium* sp, que ainda não foi caracterizada em laboratório anteriormente.

Com isso podemos dizer que diversas espécies de bactérias encontradas na rizosfera de Dendezeiro apresentam capacidade significativa de promover crescimento vegetal. Fornecendo assim, subsídios para investigações mais profundas que visem explorar mais ainda o potencial promotor de crescimento dessas bactérias e sua aplicação na agricultura tanto do dendezeiro como a de outras culturas. Para com isso estabelecer novos produtos e técnicas de manejos mais limpos na pratica da agricultura.

## REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, E. et al. M. Phosphate-Solubilizing Microorganisms Associated with The Rhizosphere of Oil Palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.) In Colombia. **Applied Soil Ecology**, v. 80, p. 26-33, 2014.
- ADAM, H. et al. Complexidade Do Desenvolvimento Reprodutivo Do Dendê Africano (*Elaeis Guineensis*, *Arecaceae*). **American Journal of Botany**, v. 92, n. 11, p. 1836-1852, 2005.
- ADESEMOYE, A. O.; KLOEPPER, J. W. Plant–microbe’s interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, p. 1-12, 2009.
- ADNAN, M. et al. Coupling Phosphate-Solubilizing Bacteria with Phosphorus Supplements Improve Maize Phosphorus Acquisition and Growth Under Lime Induced Salinity Stress. **Plants**, v. 9, n. 7, p. 900, 2020.
- AFRIDI, M. S. et al. Induction of Tolerance to Salinity in Wheat Genotypes by Plant Growth Promoting Endophytes: Involvement of ACC Deaminase and Antioxidant Enzymes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 139, p. 569-577, 2019.
- AHMAD, F. B. et al. The Outlook of The Production of Advanced Fuels and Chemicals from Integrated Oil Palm Biomass Biorefinery. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.109, p.386–411. 2019. doi: 10.1016/j.rser.2019.04.009 .
- AJENG, A. A. et al. The Effects Of Biofertilizers On Growth, Soil Fertility, And Nutrients Uptake Of Oil Palm (*Elaeis Guineensis*) Under Greenhouse Conditions. **Processes**, v. 8, n. 12, p. 1681, 2020.
- ALEMNEH, A. A. et al. Mechanisms in Plant Growth-Promoting Rhizobacteria That Enhance Legume–Rhizobial Symbioses. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 5, p. 1133-1156, 2020.

- ALMEIDA, D. T. D. et al. Effects of Different Storage Conditions on The Oxidative Stability of Crude and Refined Palm Oil, Olein and Stearin (*Elaeis guineensis*). **Food Science and Technology**, v. 39, p. 211-217, 2019.
- ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 971, 2017.
- BABALOLA, O. O. Beneficial Bacteria of Agricultural Importance. **Biotechnology letters**, v. 32, n. 11, p. 1559-1570, 2010.
- BACKER, R. et al. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, And Roadmap to Commercialization of Biostimulants For Sustainable Agriculture. **Frontiers in plant science**, p. 1473, 2018.
- BARCELOS, E. et al. Oil Palm Natural Diversity and The Potential for Yield Improvement. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 190, 2015.
- BERGMANN, J. C. et al. Biodiesel Production in Brazil and Alternative Biomass Feedstocks. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 21, p. 411-420, 2013.
- BIEDENDIECK, R., KNUUTI, T., MOORE, S. J., & JAHN, D. The “beauty in the beast”—the multiple uses of *Priestia megaterium* in biotechnology. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 105, p. 5719-5737, 2021.
- BO, B.; KIM, S. A.; & HAN, N. S. Diversidade Bacteriana E Fúngica Em Laphet, Folhas De Chá Fermentadas Tradicionais Em Mianmar, Analisadas Por Cultura, Sequenciamento Baseado Em Amplicon De DNA E Métodos De PCR-DGGE. **International Journal of Food Microbiology**, v. 320, p. 108508, 2020.
- BOARI, A. J. Estudos Realizados Sobre O Amarelecimento Fatal Dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) no Brasil. (**Documentos 348**, ISSN 1517-2201, novembro 2008).
- BOMFIM, C. A. et al. Breve História Dos Biofertilizantes No Brasil: Das Abordagens Convencionais Às Novas Soluções Biotecnológicas. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 52, n. 4, p. 2215-2232, 2021.
- BRAZILIO, M. et al. O Dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) -Revisão. **Bioenergia em Revista: Diálogos** (ISSN: 2236-9171), v. 2, n. 1, p. 27-45, 2012.
- CARR, M. K. V. The Water Relations and Irrigation Requirements of Oil Palm (*Elaeis Guineensis*): A Review. **Experimental Agriculture**, v. 47, n. 4, p. 629-652, 2011.
- CARVALHO, C. J. R. Ecofisiologia Do Dendezeiro (*Elaeis Guineensis* JACQ). In: VIEGAS, I. de J.M, MÜLLER, A. A. **A cultura do dendezeiro na Amazônia Brasileira**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, p.89-124, 2000.
- CHAGAS, F. O. et al. Chemical Signaling Involved In Plant–Microbe Interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 47, n. 5, p. 1652-1704, 2018.
- CHE ZAIN, M. S. et al. Adsorption and Desorption Properties of Total Flavonoids from Oil Palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Mature Leaf on Macroporous Adsorption Resins. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 778. 2020.
- CHENG, X. et al. Earthworms and Phosphate-Solubilizing Bacteria Stimulate Nitrogen Storage and Cycling in a Manured Arid Soil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 83, n. 1, p. 153-162, 2019.

CHINCHILLA, C. The Many Faces of Spear Rots in Oil Palm: The Need for An Integrated Management Approach. **ASD Oil Palm Papers**, v. 32, p. 1-25, 2008.

CLINE, L. C. et al. Soil Microbial Communities and Elk Foraging Intensity: Implications for Soil Biogeochemical Cycling in The Sagebrush Steppe. **Ecology letters**, v. 20, n. 2, p. 202-211, 2017.

COMPANT, S. et al. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, And Future Prospects. **Applied and environmental microbiology**, v. 71, n. 9, p. 4951-4959, 2005.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant Growth-Promoting Bacteria in The Rhizo-And Endosphere of Plants: Their Role, Colonization, Mechanisms Involved and Prospects for Utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

CORLEY, R. H. V.; TINKER, P. B. H. **The oil palm**. John Wiley & Sons, 2008.

CORRE, M. D. et al. J. Impact Of Elevated N Input On Soil N Cycling And Losses In Old-Growth Lowland And Montane Forests In Panama. **Ecology**, v. 91, n. 6, p. 1715-1729, 2010.

CUI, Z., HU, L., ZENG, L., MENG, W., GUO, D., & SUN, L. Isolation and characterization of *Priestia megaterium* KD7 for the biological control of pear fire blight. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1099664, 2023.

DA SILVA CÉSAR, A.; BATALHA, M. O.; ZOPELARI, A. L. M. S. Oil Palm Biodiesel: Brazil's Main Challenges. **Energy**, v. 60, p. 485-491, 2013.

DARRAS, K. F. et al. Reducing Fertilizer and Avoiding Herbicides In Oil Palm Plantations—Ecological And Economic Valuations. **Frontiers in Forests and Global Change**, v. 2, p. 65, 2019.

DE ASSIS COSTA, O. Y. *et al.* Correction: Fungal Diversity In Oil Palm Leaves Showing Symptoms Of Fatal Yellowing Disease. **Plos one**, v. 16, n. 6, e0254042. 2021.

DE CASTILHO, C. L., LONGONI, L., SAMPAIO, J., LISBOA, B. B., VARGAS, L. K., & BENEDUZI, A. The rhizosphere microbiome and growth-promoting rhizobacteria of the Brazilian juçara palm. **Rhizosphere**, v. 15, p. 100233, 2020.

DE JESUS BORGES, A.; COLLICCHIO, E.; CAMPOS, G. A. A Cultura Da Palma De Óleo (*Elaeis Guineenses* Jacq.) No Brasil E No Mundo: Aspectos Agronômicos E Tecnológicos-Uma Revisão. **Revista Liberato**, v. 17, n. 27, p. 65-78, 2016.

DE OLIVEIRA, L. C. et al. Bactérias Endofíticas E A Promoção De Crescimento De Plantas De Pimenta-Do-Reino. Embrapa Amazônia Oriental-Artigo Em Periódico Indexado (ALICE). **R. Society and Development**, v. 9, n. 11, e2909119818, 2020.

DE ZUTTER, N., AMEYE, M., VERMEIR, P., VERWAEREN, J., DE GELDER, L., & AUDENAERT, K. Innovative rhizosphere-based enrichment under P-limitation selects for bacterial isolates with high-performance P-solubilizing traits. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 6, p. e02052-22, 2022.

DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA, M; GLICK, B. R.; SANTOYO, G. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): an efficient mechanism to counter salt stress in crops. **Microbiological Research**, v. 235, p. 126439, 2020.

- DELGADO-BAQUERIZO, M. et al. Microbial Diversity Drives Multifunctionality In Terrestrial Ecosystems. **Nature communications**, v. 7, n. 1, p. 10541, 2016.
- DHAWI, F. The Role of Plant Growth-Promoting Microorganisms (PGPMs) and Their Feasibility in Hydroponics and Vertical Farming. **Metabolites**, v. 13, n. 2, p. 247, 2023.
- DINI-ANDREOTE, F.; RAAIJMAKERS, J. M. Embracing Community Ecology in Plant Microbiome Research. **Trends in plant science**, v. 23, n. 6, p. 467-469, 2018. doi:10.1007/bf02005135.
- EBRAHIMI, A., & OR, D. Microbial Community Dynamics in Soil Aggregates Shape Biogeochemical Gas Fluxes from Soil Profiles—Upscaling an Aggregate Biophysical Model. **Global Change Biology**. v. 22, n. 9, p. 3141-3156, 2016.
- EIDA, A. A. et al. Desert Plant Bacteria Reveal Host Influence and Beneficial Plant Growth Properties. **PLoS One**, v. 13, n. 12, p. e0208223, 2018.
- EILERS, K. G. et al. Digging Deeper to Find Unique Microbial Communities: The Strong Effect of Depth on The Structure of Bacterial and Archaeal Communities in Soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 50, p. 58-65, 2012.
- ETESAMI, H.; MAHESHWARI, D. K. Use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Pgprs) With Multiple Plant Growth Promoting Traits in Stress Agriculture: Action Mechanisms and Future Prospects. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 156, p. 225-246, 2018.
- FAN, Di; SMITH, D. L. Characterization of selected plant growth-promoting rhizobacteria and their non-host growth promotion effects. **Microbiology spectrum**, v. 9, n. 1, p. e00279-21, 2021.
- FASUSI, O. A., CRUZ, C., & BABALOLA, O. O. Agricultural Sustainability: Microbial Biofertilizers in Rhizosphere Management. **Agriculture**, v. 11, n. 2, p. 163, 2021.
- FELESTRINO, É. B. et al. Plant Growth Promoting Bacteria Associated With *Langsdorffia hypogaea*-Rhizosphere-Host Biological Interface: A Neglected Model Of Bacterial Prospection. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 172, 2017.
- FIDALGO, C., HENRIQUES, I., ROCHA, J., TACÃO, M., & ALVES, A. Culturable Endophytic Bacteria from The Salt Marsh Plant *Halimione portulacoides*: Phylogenetic Diversity, Functional Characterization, And Influence of Metal (Loid) Contamination. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 10200-10214, 2016.
- FIERER, N. et al. Cross-Biome Metagenomic Analyses of Soil Microbial Communities and Their Functional Attributes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 52, p. 21390-21395, 2012.
- GADD, G. M. Metals, Minerals and Microbes: Geomicrobiology and Bioremediation. **Microbiology**, v. 156, n. 3, p. 609-643, 2010.
- GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p. 30-39, 2014.
- GRAHAM, Emily B. et al. Microbes As Engines Of Ecosystem Function: When Does Community Structure Enhance Predictions of Ecosystem Processes?. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 214, 2016.
- GRIFFITHS, B. S., AND LAURENT P. "Insights into The Resistance and Resilience of The Soil Microbial Community." **FEMS microbiology reviews** v.37, n. 2, p. 112-129, 2013.

- GUPTA, S., & PANDEY, S. ACC deaminase producing bacteria with multifarious plant growth promoting traits alleviates salinity stress in French bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1506, 2019.
- GUTIERREZ, C. K. et al. Production of The Phytohormone Indole-3-Acetic Acid by Estuarine Species of The Genus *Vibrio*. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 8, p. 2253-2258, 2009.
- HASSLER, E. et al. Soil Nitrogen Oxide Fluxes from Lowland Forests Converted to Smallholder Rubber and Oil Palm Plantations in Sumatra, Indonesia. **Biogeosciences**, v. 14, n. 11, p. 2781-2798, 2017.
- HOPPE, J. M. et al. Uso Do Bacsol Na Produção De Mudas De Erva-Mate *Illex*. In relatório de pesquisa. **Engenharia Florestal Centro Tecnológico De Silvicultura Cepef/Fatec**, Santa Maria. p. 66. 2005
- HUANG, X.F. et al. Interações Da Rizosfera: Exsudatos Radiculares, Micróbios E Comunidades Microbianas. **Botânica**, v. 92, n. 4, p. 267-275, 2014.
- JACOBY, R. et al. The Role of Soil Microorganisms in Plant Mineral Nutrition—Current Knowledge and Future Directions. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1617, 2017.
- JANA, G. A.; YAISH, M. W. Isolation and Functional Characterization of a Mvoc Producing Plant-Growth-Promoting Bacterium Isolated from The Date Palm Rhizosphere. **Rhizosphere**, v. 16, p. 100267, 2020.
- JASIM, B., JOHN JIMTHA, C., JYOTHIS, M., & RADHAKRISHNAN, E. K. Plant growth promoting potential of endophytic bacteria isolated from *Piper nigrum*. **Plant growth regulation**, 71, 1-11. 2013.
- JIMÉNEZ-VÁZQUEZ, K. R. et al. The plant beneficial rhizobacterium *Achromobacter sp.* 5B1 influences root development through auxin signaling and redistribution. **The Plant Journal**, v. 103, n. 5, p. 1639-1654, 2020.
- JO, H. W. et al. Growth Increase in the Herbaceous Plant *Centella asiatica* by the Plant Growth-Promoting Rhizobacteria *Priestia megaterium* HyangYak-01. **Plants**, v. 12, n. 13, p. 2398, 2023.
- KANIAPAN, S. et al. The Utilisation of Palm Oil and Oil Palm Residues and The Related Challenges as A Sustainable Alternative in Biofuel, Bioenergy, And Transportation Sector: A Review. **Sustainability**, v. 13, n. 6, p. 3110, 2021.
- KANNAN, V., BASTAS, K., AND DEVI, R. (2015). “Scientific and Economic Impact of Plant Pathogenic Bacteria,” in **Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria**, eds R. V. Kannan, and K. K. Bastas (Boca Raton, FL: CRC Press), 369–392. doi: 10.1201/b18892-21.
- KHALID, M. et al. Influence of Bio-Fertilizer Containing Beneficial Fungi and Rhizospheric Bacteria on Health Promoting Compounds and Antioxidant Activity of *Spinacia Oleracea* L. **Botanical studies**, v. 58, n. 1, p. 1-9, 2017.
- KHAN, N.; BANO, A. M.; & BABAR, A. Impacts of Plant Growth Promoters and Plant Growth Regulators on Rainfed Agriculture. **PloS one**, v. 15, n. 4, p. e0231426, 2020

- KHANNA, A., RAJ, K., KUMAR, P., & WATI, L. Antagonistic and growth-promoting potential of multifarious bacterial endophytes against Fusarium wilt of chickpea. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 32, n. 1, p. 17, 2022.
- KHASANAH, N. et al. Oil Palm Agroforestry Can Achieve Economic and Environmental Gains as Indicate by Multifunctional Land Equivalent Ratios. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 3, p. 122, 2020.
- KOUR, D. et al. Biofertilizantes Microbianos: Biorecursos E Tecnologias Ecologicamente Corretas Para A Sustentabilidade Agrícola E Ambiental. **Biocatálise e Biotecnologia Agrícola**, v. 23, p. 101487, 2020.
- LAMONT, B. B.; PÉREZ-FERNÁNDEZ, M. Total Growth and Root-Cluster Production by Legumes and Proteas Depends on Rhizobacterial Strain, Host Species and Nitrogen Level. **Annals of Botany**, v. 118, n. 4, p. 725-732, 2016.
- LI, K. *et al.* Critical Factors Limiting Pollination Success in Oil Palm: A Systematic Review. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 280, p. 152-160, 2019.
- LI, Q. et al. A plant growth-promoting bacteria *Priestia megaterium* JR48 induces plant resistance to the crucifer black rot via a salicylic acid-dependent signaling pathway. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1046181, 2022.
- LI, Y. et al. Effects of Artificial Soil Aeration Volume and Frequency on Soil Enzyme Activity and Microbial Abundance When Cultivating Greenhouse Tomato. **Soil Science Society of America Journal**, v. 80, n. 5, p. 1208-1221, 2016.
- LI, Y.; LI, Q.; GUAN, G., & CHEN, S. Phosphate Solubilizing Bacteria Stimulate Wheat Rhizosphere and Endosphere Biological Nitrogen Fixation by Improving Phosphorus Content. **PeerJ**, v. 8 e9062, 2020.
- LIU, D. et al. *Klebsiella pneumoniae* SnebYK mediates resistance against *Heterodera glycines* and promotes soybean growth. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1134, 2018.
- LIU, J. M., LIANG, Y. T., WANG, S. S., JIN, N., SUN, J., LU, C., ... & WANG, F. Z Antimicrobial activity and comparative metabolomic analysis of *Priestia megaterium* strains derived from potato and dendrobium. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 5272, 2023.
- LOPES, M. J. dos S.; DIAS-FILHO, M. B.; GURGEL, E. S. C. Successful Plant Growth-Promoting Microbes: Inoculation Methods and Abiotic Factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 606454, 2021.
- MAHLIA, T. M. I. *et al.* Palm Oil and Its Wastes as Bioenergy Sources: A Comprehensive Review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 15, p. 14849-14866, 2019.
- MANCINI, A. et al. Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. **Molecules**, v. 20, n. 9, p. 17339-17361, 2015.
- MARQUES, M. B. L. et al. **Produção De Dendê (*Elaeis Guineensis*) e a Participação do Brasil no Mercado Internacional**. 2019.
- MARTINS, P. M. et al. Persistence In Phytopathogenic Bacteria: Do We Know Enough?. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p.1099, 2018.
- MBA, O. I.; DUMONT, M.; NGADI, M. Palm Oil: Processing, Characterization and Utilization in The Food Industry—A Review. **Food bioscience**, v. 10, p. 26-41, 2015.

MEIJAARD, E. et al. The Environmental Impacts of Palm Oil in Context. **Nature plants**, v. 6, n. 12, p. 1418-1426, 2020.

MIRANSARI, M. Soil microbes and the availability of soil nutrients. **Acta physiologiae plantarum**, v. 35, n. 11, p. 3075-3084, 2013.

MONTEIRO, P. H. R. **Efeito de Bacsol® sobre o crescimento e teor de macronutrientes em mudas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná. Curitiba 2013.

MONTEIRO, P. H. R.; AUER, C. G. **Avaliação Do Crescimento De Mudas De *Eucalyptus Benthamii* Após O Uso De Bacsol®**. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 30.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 14.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 12.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 9.; SIMPÓSIO SOBRE SELÊNIO NO BRASIL, 1., 2012, Maceió. A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola: anais. Viçosa, MG: SBCS, 2012. FERTBIO 2012., 2012.

MSIMBIRA, L. A.; SMITH, D. L. The Roles of Plant Growth Promoting Microbes in Enhancing Plant Tolerance to Acidity and Alkalinity Stresses. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 106, 2020.

MURUGESAN, P et al. Oil Palm (*Elaeis Guineensis*) Genetic Resources for Abiotic Stress Tolerance: A Review. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 171, p.12-17, 2017.

NASCIMENTO, S. M. C. D. et al. Patogenicidade E Caracterização De Thielaviopsis Ethacetica Em Palma De Óleo. **Summa Phytopathologica**, 46, 236-241. 2020.

NAUTIYAL, C. S. An Efficient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. **FEMS Microbiol Lett**, v. 170, p. 265-70, Jan., 1999.

OLIVEIRA, C. A. et al. Viabilidade Técnica E Econômica Do Biomaphos® (*Bacillus Subtilis* CNPMS B2084 E *Bacillus Megaterium* CNPMS B119) Nas Culturas De Milho E Soja. **Embrapa Milho e Sorgo-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2020.

OLIVEIRA-PAIVA, C. A. et al. Inoculante à base de bactérias solubilizadoras de fosfato nas culturas do milho e da soja (BiomaPhos®): dúvidas frequentes e boas práticas de inoculação. **Embrapa Milho e Sorgo-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2021.b

OLIVEIRA-PAIVA, C. A. et al. Validação da recomendação para o uso do inoculante BiomaPhos® (*Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119) na cultura de soja. **Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2021.a

ONG, E. S., RABBANI, A. H., HABASHY, M. M., ABDELDAYEM, O. M., AL-SAKKARI, E. G., & RENE, E. R. Palm oil industrial wastes as a promising feedstock for biohydrogen production: A comprehensive review. **Environmental Pollution**, v. 291, p. 118160, 2021.

ONG, P. W. et al. Isolation of High-Quality Total RNA From Various Tissues of Oil Palm (*Elaeis Guineensis*) For Reverse Transcription Quantitative Real-Time PCR (RT-Qpcr). **J. Oil Palm Res**, 31, 195-203. 2019.

ONOJA, E. et al. Oil Palm (*Elaeis Guineensis*) Biomass in Malaysia: The Present and Future Prospects. **Waste and Biomass Valorization**, v. 10, n. 8, 2099-2117, 2019.

OSAKI, M.; BATALHA, M. O. Produção De Biodiesel E Óleo Vegetal No Brasil: Realidade

- E Desafio. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 227-242, 2011.
- OSORIO-GUARÍN, J. A. et al. Genome-Wide Association Study (GWAS) For Morphological And Yield-Related Traits In An Oil Palm Hybrid (*Elaeis Oleifera* X *Elaeis Guineensis*) Population. **BMC plant biology**, v. 19, n. 1, p. 1-11. 2019.
- OTLEWSKA, A. et al. When Salt Meddles Between Plant, Soil, and Microorganisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1429, 2020.
- ÖZDOĞAN, D. K.; AKÇELIK, N.; AKÇELIK, M. Genetic diversity and characterization of plant growth-promoting effects of bacteria isolated from rhizospheric soils. **Current Microbiology**, v. 79, n. 5, p. 132, 2022.
- PADILLA-GÁLVEZ, Natalia et al. Antagonistic activity of endophytic actinobacteria from native potatoes (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* L.) against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Pectobacterium atrosepticum*. **BMC microbiology**, v. 21, n. 1, p. 1-17, 2021.
- PARRY, S. et al. Denitrification in Pasture and Cropped Soil Clods as Affected by Pore Space Structure. *Soil Biology and Biochemistry*, n.31, v.4, p.493-501. 1999.
- PARVEEZ, G. K. A. et al. Production of Polyhydroxybutyrate in Oil Palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Mediated by Microprojectile Bombardment of Phb Biosynthesis Genes into Embryogenic Calli. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 598, 2015.
- PEREIRA, L. B., ANDRADE, G. S., MENEGHIN, S. P., VICENTINI, R., & OTTOBONI, L. M. Prospecting Plant Growth-Promoting Bacteria Isolated from The Rhizosphere of Sugarcane Under Drought Stress. **Current Microbiology**, v. 76, p. 1345-1354, 2019.
- PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from The Underground: Molecular Plant–Rhizobacteria Interactions. **Plant, Cell & Environment**, v. 26, n. 2, p. 189-199, 2003.
- PII, Y. et al. Microbial Interactions in The Rhizosphere: Beneficial Influences of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Nutrient Acquisition Process. A Review. **Biology and fertility of soils**, v. 51, n. 4, p. 403-415, 2015.
- PIRKER, J. *et al.* What Are The Limits To Oil Palm Expansion?. **Global Environmental Change**, v. 40, p. 73-81, 2016.
- PRAMANIK, K., MITRA, S., SARKAR, A., SOREN, T., & MAITI, T. K. Characterization of cadmium-resistant *Klebsiella pneumoniae* MCC 3091 promoted rice seedling growth by alleviating phytotoxicity of cadmium. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 24419-24437, 2017.
- QUAST, C. et al. The SILVA Ribosomal RNA Gene Database Project: Improved Data Processing and Web-Based Tools. **Nucleic acids research**, v. 41, n. D1, p. D590-D596, 2012.
- QUEIROZ, A. G.; FRANÇA, L.; PONTE, M. X. The Life Cycle Assessment of Biodiesel from Palm Oil (“Dendê”) In the Amazon. **Biomass and bioenergy**, v. 36, p. 50-59, 2012.
- RAMAKRISHNA, W., YADAV, R., & LI, K. Plant Growth Promoting Bacteria in Agriculture: Two Sides of a Coin. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019.
- RAMIREZ-CONTRERAS, N.E. et al. The GHG Emissions and Economic Performance of The Colombian Palm Oil Sector; Current Status and Long-Term Perspectives. **Journal of Cleaner Production**, v. 258, p. 120757, 2020.

- RANA, K. L. et al. Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 113, p. 1075-1107, 2020.
- REHAN, M., AL-TURKI, A., ABDELMAGEED, A. H., ABDELHAMEID, N. M., & OMAR, A. F. Performance of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Isolated from Sandy Soil on Growth of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Plants**, v. 12, n. 8, p. 1588, 2023.
- REZKI, S. et al. Differences in Stability of Seed-Associated Microbial Assemblages in Response to Invasion by Phytopathogenic Microorganisms. **PeerJ**, n.4, e1923. 2016.
- RICHARDSON, A. E., BAREA, J. M., MCNEILL, A. M., & PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant and Soil**, 2009.
- RIVERA-MÉNDEZ, Y. D.; RODRÍGUEZ, D. T.; ROMERO, H. M. Carbon Footprint of The Production of Oil Palm (*Elaeis Guineensis*) Fresh Fruit Bunches in Colombia. **Journal of cleaner production**, v. 149, p. 743-750, 2017.
- RODRIGUES-NETO, J. C. et al. Metabolic Fingerprinting Analysis Of Oil Palm Reveals A Set Of Differentially Expressed Metabolites In Fatal Yellowing Symptomatic And Non-Symptomatic Plants. **Metabolomics**, v.14, n.10. 2018 doi:10.1007/s11306-018-1436-7.
- RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Role in Plant Growth Promotion. **Biotechnology advances**, v. 17, n. 4-5, p. 319-339, 1999.
- ROSE, M. T. et al. Up To 52% N Fertilizer Replaced by Biofertilizer in Lowland Rice Via Farmer Participatory Research. **Agronomy for sustainable development**, v. 34, n. 4, p. 857-868, 2014.
- SAKATA, R. et al. Effect of Soil Types and Nitrogen Fertilizer on Nitrous Oxide and Carbon Dioxide Emissions in Oil Palm Plantations. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 61, n. 1, p. 48-60, 2015.
- SAMBROOK J, FRITSCHI EF AND MANIATIS T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 1989.
- SANTOYO, G. et al. Plant Growth-Promoting Bacterial Endophytes. **Microbiological research**, v. 183, p. 92-99, 2016.
- SARAF, M.; PANDYA, U.; THAKKAR, A. Role of Allelochemicals In Plant Growth Promoting Rhizobacteria For Biocontrol of Phytopathogens. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p. 18-29, 2014.
- SEKERI, S. H. et al. Preparation and Characterization of Nanosized Lignin from Oil Palm (*Elaeis Guineensis*) Biomass as A Novel Emulsifying Agent. **International journal of biological macromolecules**, v. 164, p. 3114-3124, 2020.
- SHEN, C. et al. Plant Diversity Enhances Soil Fungal Diversity and Microbial Resistance to Plant Invasion. **Applied and environmental microbiology**. v. 87, n. 11, p. e00251-21, 2021.
- SILALERTRUKSA, T. et al. Environmental Sustainability of Oil Palm Cultivation In Different Regions Of Thailand: Greenhouse Gases And Water Use Impact. **Journal of cleaner production**, v. 167, p. 1009-1019, 2017.

- SINGH, R. P., SHELKE, G. M., KUMAR, A., & JHA, P. N. Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to “stress ethylene” produced in plants. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 937, 2015.
- SINGH, T.; SINGH, D. K. *Rhizospheric microbacterium sp.* P27 showing potential of lindane degradation and plant growth promoting traits. **Current Microbiology**, v. 76, p. 888-895, 2019.
- SMALLA, K. *et al.* Rapid DNA Extraction Protocol from Soil for Polymerase Chain Reaction-Mediated Amplification. **Journal of Applied Bacteriology**, n.74, v.1, p.78-85. 1993.
- SMIT, E. *et al.* Diversity and Seasonal Fluctuations of The Dominant Members of The Bacterial Soil Community in A Wheat Field as Determined by Cultivation and Molecular Methods. **Applied and environmental microbiology**, v.67, n.5, p.2284-2291. 2001.
- SOUSA, A. S. *et al.* Testing Culture Media For Pollen Germination Of *Elaeis Guineensis* Jacq. (Oil Palm, *Arecaceae*). **Botanical journal of the Linnean Society**, 182(2), 536-542.2016.
- SOUZA, R. de; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant Growth-Promoting Bacteria As Inoculants In Agricultural Soils. **Genetics and molecular biology**, v. 38, p. 401-419, 2015.
- SOUZA, S. P., SEABRA, J. E. A., & NOGUEIRA, L. A. H. Feedstocks for Biodiesel Production: Brazilian And Global Perspectives. **Biofuels**, v. 9, n. 4, p. 455–478. 2017doi:10.1080/17597269.2017.1278931.
- SUN, L. *et al.* Lowered Cd toxicity, uptake and expression of metal transporter genes in maize plant by ACC deaminase-producing bacteria *Achromobacter sp.* **Journal of Hazardous Materials**, v. 423, p. 127036, 2022.
- TAMREIHAO, K. *et al.* Biocontrol and Plant Growth Promoting Activities of A Streptomyces Corchorusii Strain UCR3-16 And Preparation Of Powder Formulation For Application As Biofertilizer Agents For Rice Plant. **Microbiological research**, v. 192, p. 260-270, 2016.
- TAN, H.S.*et al.* Proteomic Profiling of Mature Leaves from Oil Palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.). **Electroforese**, v. 38, n. 8, p. 1147-1153, 2017.
- TIAN, B. *et al.* Beneficial Traits of Bacterial Endophytes Belonging to The Core Communities of The Tomato Root Microbiome. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 247, p. 149-156, 2017.
- TRAORÉ, O. Y. *et al.* Nitrogen and Phosphorus Uptake from Isotope-Labeled Fertilizers by Sorghum and Soil Microorganisms. **Agrosystems, Geosciences & Environment**, v. 3, n. 1, p. e20111, 2020.
- UNITES STATES. United States Department of Agriculture [USDA]. Production, Supply and Distribution. 2022. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>. Acesso em: 20 maio de 2023.
- VAN DER WOLF, J., & DE BOER, S. H. Phytopathogenic Bacteria. In **Principles of Plant-Microbe Interactions**. Springer, Cham. pp. 65-77, 2015.
- VEJAN, P. *et al.* Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 573, 2016.
- VERBURG, T. *et al.* Enhancement of Microalgae Growth Using Magnetic Artificial Cilia. **Biotechnology and bioengineering**, v. 118, n. 7, p. 2472-2481, 2021.

WANG, H., LIU, R., YOU, M. P., BARBETTI, M. J., & CHEN, Y. Pathogen biocontrol using plant growth-promoting bacteria (PGPR): Role of bacterial diversity. **Microorganisms**, v. 9, n. 9, p. 1988, 2021.

WILPSIZESKI, R. L. et al. Soil Aggregate Microbial Communities: Towards Understanding Microbiome Interactions at Biologically Relevant Scales. **Applied and environmental microbiology**, v. 85, n. 14, p. e00324-19, 2019.

XIA, W. et al. Development of High-Density SNP Markers and Their Application in Evaluating Genetic Diversity and Population Structure in *Elaeis Guineensis*. **Frontiers in plant science**, 10, 130. 2019.

YASMIN, S. et al. Plant Growth Promotion and Suppression of Bacterial Leaf Blight in Rice by Inoculated Bacteria. **PloS one**, v. 11, n. 8, p. e0160688, 2016.

YU, Y.Y. et al. The Combination of Agricultural Waste Compost and Biofertilizer Improves Yield and Increases the Sustainability of A Pepper Field. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 182, n. 4, p. 560-569, 2019.

ZAINUDDIN, N., KENI, M. F., IBRAHIM, S. A. S., & MASRI, M. M. M. Effect of integrated biofertilizers with chemical fertilizers on the oil palm growth and soil microbial diversity. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 39, p. 102237, 2022.

ZEHR, J. P., JENKINS, B. D., SHORT, S. M., & STEWARD, G. F. Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a ross-system comparison. **Environmental microbiology**, v. 5, n. 7, p. 539-554, 2003.

ZHANG, L. et al. Deciphering the Root Endosphere Microbiome of The Desert Plant *Alhagi Sparsifolia* for Drought Resistance-Promoting Bacteria. **Applied and environmental microbiology**, v. 86, n. 11, p. e02863-19, 2020.

ZIPFEL, C.; OLDROYD, G. E. D. Plant Signalling in Symbiosis and Immunity. **Nature**, v. 543, n. 7645, p. 328-336, 2017.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censos 2021**. Inovações e impactos nos sistemas de informações estatísticas e geográficas do Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2021.