



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

VANESSA DOS SANTOS ARAUJO

Microrganismos potenciais e incremento de biomassa em grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.)

**BELÉM
2019**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

VANESSA DOS SANTOS ARAUJO

Microrganismos potenciais e incremento de biomassa em grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Gisele Barata da Silva

**BELÉM
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na
Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da
Universidade Federal Rural da Amazônia

Araujo, Vanessa dos Santos

Microorganismos potenciais e incremento de biomassa em grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.) / Vanessa dos Santos Araujo. - 2019.
80 f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação Agronomia,
Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2019.
Orientador: Dr. Gisele Barata da Silva

1. Gramíneas - Adubação mineral. 2. Plantas - Grama esmeralda 3. Plantas -
Microorganismos. I. Silva, Gisele Barata da (orient.) II. Título.

CDD - 584.9

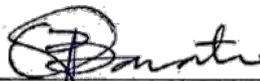
VANESSA DOS SANTOS ARAUJO

Microrganismos potenciais e incremento de biomassa em grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.)

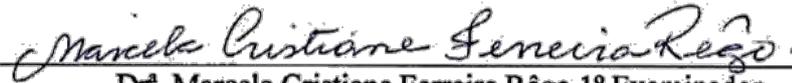
Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do curso de mestrado em Agronomia: Área de concentração Agronomia, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Gisele Barata da Silva

BANCA EXAMINADORA



**Dr.^a Prof.^a Gisele Barata da Silva - Presidente/Orientador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**



**Dr.^a Marcela Cristiane Ferreira Rêgo 1º Examinador
EXTERNO À UNIVERSIDADE**



**Dr. Walter Velasco Duarte Silvestre 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**



**Dr. Jessivaldo Rodrigues Galvão 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**

“A vida é uma união simbiótica e cooperativa que permite o triunfo aos que se associam” – Lynn Margulis.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua infinita bondade, concedendo força e proteção.

À Universidade Federal Rural da Amazônia pelo apoio estrutural, indispensável. Ao programa de Pós-graduação em agronomia, pela oportunidade de executar este trabalho. Ao CNPq pela bolsa, obtida por méritos, que auxiliou ao longo do curso. Ao campus de pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi, pela colaboração na execução de análises químicas. Ao instituto Federal do Pará, campus Breves, pelo incentivo a continuidade da pesquisa, na qualidade de servidora.

À Professora Gisele Barata da Silva pela oportunidade e o incentivo à pesquisa, auxiliando na minha formação pessoal e intelectual.

Aos colegas do Laboratório de Proteção de Plantas (LPP), novos e antigos, em especial Gleiciane Rodrigues, Ana Paula Magno e Ricardo Machado pelo apoio e conhecimentos trocados.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em agronomia pelo profissionalismo e conhecimento transmitido.

Aos membros da banca que aceitaram contribuir com meu trabalho. Ao amigo Zezinho, por atuar tão prestativamente, sempre ajudando quando possível.

À família, em especial meu esposo Alessandro Araujo, companheiro que esteve ao meu lado, sempre me apoiando e incentivando e a minha filha Sarah Family dos Santos Araujo, bem mais precioso, que soube compreender a ausência da mãe em diversas situações.

À toda minha família, pelo apoio recebido.

A todos, os meus mais sinceros agradecimentos.

Muito obrigada.

LISTA DE ABREVEATURAS

BRM-32111	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
BRM-32113	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>
PGPR	Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas
R-92	<i>Pseudoruegeria sabulilitoris strain GJMS-35</i>
R-61	<i>Bacillus thuringiensis</i> YBT-1518
R-58	<i>Bacillus thuringiensis</i> YBT-1518
UFRA-T.06	<i>Trichoderma asperellum</i>
UFRA-T.09	<i>Trichoderma asperellum</i>
UFRA-T.12	<i>Trichoderma asperellum</i>
UFRA-T.52	<i>Trichoderma asperellum</i>
MSA	Matéria seca das aparas
MSE	Matéria seca de estolão
MSR	Matéria seca de raiz
AP	Altura da planta
PCA	Análise de Componente Principal
ICV	Índice de coloração verde
RGB	Verde, vermelho e azul
N	Nitrogênio
P	Fosforo
P ⁿ	Fosfato natural de Araxá como fonte de fósforo
K	Potássio
Ca	Cálcio
Mg	Magnésio
pH	Potencial hidrogeniônico
M.O	Matéria orgânica
H+Al	Acidez potencial
I	Inoculados
NI	Não inoculados

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Efeito dos microrganismos e métodos de inoculação na produção de matéria seca total de grama esmeralda.	28
Tabela 2	Componentes principais (PCs), autovalores da matriz de correlação e estatística relacionada. Método de inoculação por rega.	29
Tabela 3	Fatores extraídos por análise de componentes principais, enfatizando variáveis de análise (matéria seca de raiz (MSR), altura de plantas (AP), matéria seca das aparas (MSA), matéria seca de estolão (MSE) e índice de coloração verde (ICV)) com carga acima de 0,7 (em módulo) sob diferentes tratamentos. Os asteriscos registram valores mais discriminatórios.	29
Tabela 4	Efeitos da inoculação de <i>B. pyrrocinia</i> nos teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em folhas grama esmeralda.	33
Tabela 5	Efeitos da inoculação de <i>B. pyrrocinia</i> nos teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em raízes grama esmeralda.	34
Tabela 6	Caracterização química do Latossolo amarelo, amostrado ao final do experimento, nos diferentes tratamentos (Calcário; Calcário+NPK; NP ⁿ K e substrato) inoculados (I) e não inoculados (NI) com rizobactéria <i>B. pyrrocinia</i> (BRM32113).	35
Tabela 7	Efeitos da inoculação de <i>B. pyrrocinia</i> na área de cobertura verde do solo em plantas de grama esmeralda, aos 0, 15, 30 e 45 dias após o plantio e inoculação.	36
Tabela 8	Imagens da cobertura verde do solo em plantas de grama esmeralda,	

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Proporção da variação no conjunto de dados explicada pelo componente principal (PC) e contribuição de cada variável (matéria seca de raiz (MSR), altura de plantas (AP), matéria seca das aparas (MSA), matéria seca de estolão (MSE) e índice de coloração verde (ICV)) para explicação da variância total pelo método “*scree plot*”. Método de inoculação por Rega. 29
- Figura 2** Escores das duas primeiras componentes principais das variáveis de análise (matéria seca de raiz (MSR), altura de plantas (AP), matéria seca das aparas (MSA), matéria seca de estolão (MSE) e índice de coloração verde (ICV)) em diferentes tratamentos: Controle, *P. fluorescens* (BRM32111), *B. pyrrocinia* (BRM32113), *P. sabulilitoris strain* GJMS-35 (R-92), *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), mix bacteriano composto por *P. fluorescens* (BRM32111) e *B. pyrrocinia* (BRM32113) e mix de *T. asperellum* composto por (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, e UFRA-T.52) em plantas de grama esmeralda. O comprimento de cada autovetor é proporcional à variância obtida para os resultados de quantificação de cada variável. Método de inoculação por rega. 30
- Figura 3** Altura de plantas e matéria seca de raiz (MSR) nos diferentes tratamentos: Controle, *P. fluorescens* (BRM32111), *B. pyrrocinia* (BRM32113), *P. sabulilitoris strain* GJMS-35 (R-92), *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), mix bacteriano composto por *P. fluorescens* (BRM32111) e *B. pyrrocinia* (BRM32113) e mix de *T. asperellum* composto por (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, e UFRA-T.52) em plantas de grama esmeralda. Método de inoculação por rega. Colunas com letras diferentes denotam diferenças significativas entre os tratamentos ($p \leq$

0,05, teste de média Tukey). Os valores referem-se à média de quatro 31
repetições \pm DP.

Figura 4 Efeitos da inoculação por rega de *B. pyrrocinia* na matéria seca de raiz (MSR) e altura de plantas (AP) em plantas de grama esmeralda. Colunas com letras diferentes denotam diferenças significativas entre os tratamentos ($p \leq 0,05$, teste de média Tukey). Os valores referem-se à média de cinco repetições \pm DP. Inoculados (com preenchimento) e não inoculados (sem preenchimento). N (ureia como fonte de nitrogênio); P (Superfosfato triplo como fonte de fósforo); Pⁿ (Fosfato de Araxá como fonte de fósforo); K (Cloreto de potássio como fonte de potássio). 32

Microrganismos potenciais e incremento de biomassa em grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.)

RESUMO

A demanda emergente para a diminuição da dependência de fertilizantes minerais e da necessidade para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável aponta o uso de microrganismos como alternativa viável ao produtor. Objetivou-se selecionar potenciais promotores de crescimento e método de inoculação de plantas de grama esmeralda os comparando com a adubação mineral. No primeiro ensaio foram testados nove microrganismos (*Pseudomonas fluorescens* (BRM32111), *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113), *Pseudoruegeria sabulilitoris strain* GJMS-35(R-92), *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-61) e *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-58), *Trichoderma asperellum* (UFRA-T.06), *T. asperellum* (UFRA-T.09), *T. asperellum* (UFRA-T.12) e *T. asperellum* (UFRA-T.52)) e dois métodos de inoculação (rega e imersão). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 8x2 (controle/não inoculado, inoculado com *P. fluorescens* (BRM32111), inoculado com *B. pyrrocinia* (BRM32113), inoculados com *P. sabulilitoris strain* GJMS-35 (R-92), inoculados com *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), inoculados com *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), inoculado com mix composto por *P. fluorescens* (BRM32111) + *B. pyrrocinia* (BRM32113) e inoculados com mix de *T. asperellum* (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, e UFRA-T.52) em dois métodos de aplicação, rega e imersão), com quatro repetições, totalizando 64 unidades experimentais. O segundo ensaio, testou-se o desempenho do melhor método e melhor microrganismo em resposta à aplicação da adubação mineral em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x2 (calcário (sem NPK), calcário+NPK (ureia, superfosfato triplo e cloreto de potássio), NPⁿK (ureia, fosfato de Araxá e cloreto de potássio) e substrato (solo sem NPK/sem calagem); com e sem inoculação) com cinco repetições. No primeiro ensaio, o método de aplicação por rega, independente do isolado, proporcionou aumento de 65% em matéria seca total, enquanto que por imersão o aumento foi em 35% em relação ao controle. Análise de componentes principais revela que as variáveis matéria seca de raiz e altura de planta foram suficientes para explicar o maior percentual de variação dos dados. Maiores acréscimos foram alcançados por BRM32113, com ganhos de 156% e 92% em matéria seca de raiz e altura de plantas, respectivamente, em relação ao controle. No segundo ensaio, melhores resultados de crescimento em altura, matéria seca de raízes, área de cobertura verde do solo e teores de nutrientes em folha e raízes, foram alcançados na ausência da adubação. Plantas inoculadas por rega com *B. pyrrocinia* (BRS3211) e cultivadas em substrato tiveram acréscimos de 78% na MSR e 65% em AP. Acréscimos significativos também foram alcançados pela inoculação combinada com a adubação mineral. A rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRS3211) revelou-se competente em induzir o crescimento da planta de grama esmeralda, podendo ser inserido em um programa de manejo nutricional ecologicamente sustentável com potencial para uso em escala comercial.

Palavras-chaves: Rizobactérias. Método de inoculação. Desenvolvimento sustentável.

Potential microorganisms and biomass increase in emerald grass (*Zoysia japonica* Steud.)

Abstract

The emerging demand for a decrease in dependence on mineral fertilizers and the need for the development of sustainable agriculture points to the use of microorganisms as a viable alternative to the producer. The objective was to select potential growth promoters and inoculation method of emerald grass plants comparing them with mineral fertilization. In the first assay, nine microorganisms (*Pseudomonas fluorescens* (BRM32111), *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113), *Pseudoruegeria sabulilitoris* strain GJMS-35 (R-92), *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-61) and *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-58), *Trichoderma asperellum* (UFRA-T.06), *T. asperellum* (UFRA-T.09), *T. asperellum* (UFRA-T.12) and *T. asperellum* (UFRA-T.52) inoculation methods (irrigation and immersion). The experimental design was completely randomized in a factorial arrangement of 8x2 (control / non-inoculated, inoculated with *P. fluorescens* (BRM32111), inoculated with *B. pyrrocinia* (BRM32113) inoculated with *P. sabulilitoris* strain GJMS-35 (R-92) with *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), inoculated with *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), inoculated with mix composed of *P. fluorescens* (BRM32111) + *B. pyrrocinia* (BRM32113) and inoculated with mixtures of *T. asperellum* (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, and UFRA-T.52) in two application, irrigation and immersion methods), with four replicates, totaling 64 experimental units. In the second trial, the performance of the best method and the best microorganism in response to the application of mineral fertilization in a completely randomized design in a 4x2 factorial scheme (limestone (without NPK), limestone + NPK (urea, triple superphosphate and potassium chloride), NPⁿK (urea, Araxá phosphate and potassium chloride) and substrate (soil without NPK / without liming), with and without inoculation) with five replicates. In the first trial, the irrigation application method, independent of the isolate, provided a 65% increase in total dry matter, whereas by immersion the increase was 35% in relation to the control. Analysis of main components reveals that the root dry matter and plant height variables were sufficient to explain the highest percentage of variation of the data. Higher increases were achieved by *B. pyrrocinia* (BRM32113), with gains of 156% and 92% in root dry matter and plant height, respectively, in relation to the control. In the second trial, better results of height growth, root dry matter, green cover area and accumulation of leaf and root nutrients were achieved in the absence of fertilization. Plants inoculated by irrigation with *B. pyrrocinia* (BRS3211) and cultivated in substrate had increases of 78% in MSR and 65% in AP. Significant increases were also achieved by inoculation combined with mineral fertilization. The rhizobacteria *B. pyrrocinia* (BRS3211) proved to be competent in inducing the growth of the emerald grass plant and could be inserted into an ecologically sustainable nutritional management program with potential for commercial use.

Key-words: Rhizobacteria. Method of inoculation. Sustainable development.

SUMÁRIO

	RESUMO	10
	ABSTRACT	11
	SUMÁRIO	12
1	CONTEXTUALIZAÇÃO	14
1.1	REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1.1	Gramma Esmeralda (<i>Zoysia japonica</i> Steud.).	15
1.1.2	Aspectos nutricionais da interação microrganismo-planta	17
1.1.3	Microrganismos promotores de crescimento de planta	18
	REFERÊNCIAS	20
	MICRORGANISMOS POTENCIAIS E INCREMENTO DE BIOMASSA EM GRAMA ESMERALDA (<i>Zoysia japonica</i> Steud.)	23
	Resumo	23
	Abstract	24
2	Introdução	25
3	Material e métodos	26
3.1	Seleção de isolados e método de inoculação	26
3.1.1	Local de estudo, material vegetal e inoculante	26
3.1.2	Variáveis de crescimento vegetal	27
3.1.3	Análise estatística	27
3.2	Rizobactéria promotora do crescimento de grama esmeralda (<i>Zoysia japonica</i> Steud.) x adubação mineral	28
3.2.1	Local de estudo, material vegetal e inoculante	28
3.2.2	Variáveis de crescimento vegetal	28
3.2.3	Avaliação da área de cobertura verde do solo	28
3.2.4	Teores de nutrientes	29
3.2.5	Análise estatística	29
4	RESULTADOS	29
4.1	Seleção de isolados e do método de inoculação	29
4.2	Efeito da inoculação da <i>Burkholderia pyrrocinia</i> x adubação mineral do solo	33

5	DISCUSSÃO	40
6	CONCLUSÕES	45
	REFERÊNCIAS	45

1. Contextualização

Historicamente, a produção de grama no Brasil teve início a partir da década de 70, com a instalação da empresa Itograss Agrícola Ltda, no estado de São Paulo, que por meio de técnicas de cultivo desenvolvidas nos Estados Unidos, lançou no país as primeiras gramas cultivadas (GODOY, 2005). Porém, o país ainda não se posiciona entre os principais produtores mundiais de grama, no entanto tem-se mostrado um setor em pleno crescimento, com expansão de 10 mil hectares entre os anos 2000 e 2005, atingindo uma área de aproximadamente 17.000 ha (ZANON; PIRES, 2010).

Cerca de 80% das gramas cultivadas no país pertencem à variedade Esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.), alcançando os principais mercados consumidores de gramados, com destaque para obras públicas, parques industriais, jardins residenciais e áreas esportivas, sendo este último o responsável pelo consumo da maior parte de grama cultivada, principalmente tratando-se de campos de golfe e estádios de futebol (GURGEL, 2003).

O Estado de São Paulo destaca-se como principal produtor, com 12.000 ha cultivados, seguido dos Estados do Paraná e Minas Gerais (ANTONIOLLI, 2015). Para alcançar outros patamares e garantir características produtivas importantes de crescimento, é de fundamental importância que o manejo seja acompanhado por tecnologias que favoreçam o desempenho da espécie, tais como a irrigação, adubação, uso de defensivos e reguladores de crescimento (NASCIMENTO, 2017), dentre outros produtos químicos que incrementam custos ambientais e de produção.

No caso das adubações, Backes et al. (2010) afirmam a necessidade em haver equilíbrio para com esta prática, que em situações excessivas passam a promover aumentos nas aparas comprometendo o desenvolvimento de rizomas, estolões e raízes, permitindo a formação de tapetes de menor resistência. A busca por métodos alternativos e de origem biológica vem ganhando espaço no mercado agrícola e com isso, o interesse na utilização de microrganismos benéficos (fungos micorrízicos arbusculares - FMA, rizobactérias promotoras de crescimento em plantas - PGPR e fungos do gênero *Trichoderma*) na agricultura tem aumentado significativamente, devido a uma maior conscientização sobre a preservação do meio ambiente e incentivando a busca por alternativas que reduzam o uso de produtos químicos (BETTIOL, 2009).

Dentre os grupos de microrganismos com potencial para utilização na agricultura encontram-se aqueles associados à promoção de crescimento de plantas. O

estudo desses microrganismos vem merecendo destaque nos últimos anos (RÊGO et al., 2014; NASCENTE, 2016; LOPES et al., 2018) em razão da grande demanda por tecnologias sustentáveis, podendo reduzir os custos de produção, aumentar a produtividade e a rentabilidade do agronegócio (GOMES et al., 2016).

Conhecendo as vantagens da inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas, busca-se selecionar isolados considerados eficientes na promoção do crescimento de mudas de grama esmeralda e identificar o melhor método de inoculação, utilizando rizobactérias e fungos do gênero *Trichoderma*, bem como seu desempenho mediante o uso da adubação mineral.

1.1 Revisão de literatura

1.1.1 Grama Esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.)

As gramas pertencem à família das Gramíneas (*Gramineae*), é originária da Ásia, mais precisamente do Japão, formada por mais de 10.000 espécies nativas de países localizados próximo ao Pacífico, tendo seu centro de origem em regiões perto do sudeste da Ásia, contudo menos de 50 espécies podem ser utilizadas na formação de gramados. O gênero *Zoysia sp.*, é constituído principalmente por três espécies: *Z. japonica*, *Z. matrella* e *Z. tenuifolia* onde a mais popular e utilizada no Brasil é a *Z. japonica*, também conhecida como Esmeralda (*Z. japonica* Stud.) (GURGEL, 2003).

Os gramados ornamentais são componentes básicos em muitas paisagens, sendo importantes para ocupação e revestimento do solo. Eles impedem as erosões eólicas e pluviais, conservando o potencial produtivo do solo, diminuindo a temperatura e reduzindo a formação de lama e poeira em residências, proporcionando conforto térmico e bem estar ao ambiente. Eles servem como área de recreação e, ainda, pelo seu efeito estético contemplativo, valorizando o espaço arquitetônico e imobiliário, sendo de grande destaque no paisagismo (MURDOCH et al., 1998).

A grama Esmeralda é uma planta herbácea, possui o hábito crescimento rizomatoso-estolonífero, perene e muito ramificada, possui folhas finas e estreitas de coloração verde esmeralda e um crescimento lento quando comparada com outras cultivares, adaptando-se bem a ampla gama de condições de solo brasileiro, porém, desenvolve-se melhor em solos bem drenados. Uma das vantagens do uso da grama esmeralda é a formação de um belo tapete, pelo entrelaçamento dos estolões, penetrantes e que enraízam facilmente (GODOY et al., 2012).

Quanto ao hábito de crescimento, as gramas possuem meristema subapical, localizado na base da planta, formado por um grupo de nós e entrenós compactados, conhecido como coroa e é a principal razão pela qual as gramas podem ser cortadas continuamente, as gramas quando cespitosas se desenvolvem-se pela emissão de perfilhos formando touceiras, ao passo que as gramas estoloníferas crescem por estolões laterais e superficiais e as gramas rizomatosas por rizomas laterais subsuperficiais (GURGEL, 2003).

Somente as gramas rizomatosas e estoloníferas podem ser comercializadas na forma de tapete, devido à estrutura criada por estas partes vegetativas, característica que permite um corte da grama com fina camada em torno de 0,5 a 1,0 cm de solo aderido (GURGEL, 2003). A grama esmeralda é formada por um grande número de rizomas, característica que confere excelente capacidade de resistência ao pisoteio, sendo portanto amplamente utilizada em contenção de taludes e em áreas com problemas de erosão (GODOY; VILLAS BÔAS, 2010).

Adapta-se facilmente à diferentes tipos de solos, desde arenosos, à argilosos, exceto solos com baixa capacidade de drenagem, apresentando um bom desempenho em áreas de plena insolação, sendo tolerantes ao frio e salinidade, contudo, nessas condições seu crescimento torna-se lento (GURGEL, 2003). Entretanto, para que os gramados possam ter um bom crescimento e manter a qualidade é necessário que sejam adequadamente supridos de acordo com suas necessidades nutricionais (GODOY; VILLAS BÔAS, 2003).

Na produção comercial, a principal preocupação do produtor em estabelecer um gramado está na obtenção de um sistema radicular vigoroso, de forma a desenvolver uma boa quantidade de rizomas e/ou estolões, uma vez que, o desenvolvimento de tais estruturas de propagação é o fator mais importante na capacidade de enraizamento de gramados, permitindo que, durante sua maturidade fisiológica, os tapetes sejam removidos com uma quantidade mínima de solo, que ao ser transplantado para outro local dará origem a outro gramado (CHARBONNEAU, 2003).

É importante lembrar que, cada vez que os tapetes são cortados, uma pequena camada de solo é levada. Logo, nestes sistemas a retirada de nutrientes do local é grande, pois, além dos nutrientes extraídos pelas plantas uma parte dos nutrientes contidos numa camada mais superficial também é retirada da área e, portanto, estes solos podem ter sua fertilidade reduzida se não for realizada uma reposição adequada de nutrientes que vise atender a demanda das plantas para a produção do tapete e manter

um nível adequado de fertilidade do solo (GODOY; VILLAS BÔAS 2003), daí a necessidade de se estabelecer um manejo nutricional eficiente e sustentável.

1.1.2 Aspectos nutricionais da interação microorganismo-planta

Um dos maiores desafios para a agricultura na atualidade é desenvolver sistemas agrícolas sustentáveis, que sejam capazes de garantir qualidade e quantidade de produtos sem que os recursos do solo e do ambiente sejam afetados (SOUSA et al., 2014). Na produção comercial de tapetes, é praticamente impossível seu cultivo sem o uso de fertilizantes químicos. Fato que, as áreas de produção de gramas são muito compactadas, condição essa resultante de práticas de manejo decorrentes ao longo dos anos após sua implantação, sem que se mobilize o solo de modo efetivo. Conseqüentemente, a quantidade de fertilizantes adicionada nesse sistema deve ser alta para elevar a concentração de nutrientes no solo e suprir as necessidades resultantes da pouca aeração nas raízes, já que a compactação acaba diminuindo a eficiência de absorção de nutrientes pelas plantas (GODOY; VILLAS BÔAS, 2003).

Nesta prática, as aplicações que em muitas instâncias, ocorrem de forma empírica, sem qualquer harmonia com as normas dos receituários agrônômicos, em que o uso abusivo e em grandes quantidades terminam por agredir o ambiente em médio ou longo prazo, sem contabilizar o custo de produção que tornam-se elevado face a enorme quantidade de fertilizante mineral gasto para fazer uma planta, doente e intoxicada, produzir um mínimo aceitável (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Acredita-se que uma importante estratégia consista na inoculação de bactérias e fungos considerados promotores do crescimento de plantas. Segundo Coelho (2007), a utilização destes microrganismos passou a ser uma alternativa para diminuição da utilização de agrotóxicos e produtos químicos. Além disso, o uso de tais inoculantes pode aumentar a produção agrícola, tornar o produto mais competitivo e diferenciado e ainda diminuir os custos para o produtor, pela menor necessidade de uso de fertilizantes.

O papel benéfico da comunidade microbiana na promoção do crescimento das plantas pode ocorrer em inúmeras formas, por exemplo, atuando na mobilização e transporte de nutrientes para a planta, pela fixação de nitrogênio e solubilização/mineralização de fósforo, aumento da área de absorção das raízes, produção de fitohormônios e de compostos orgânicos voláteis que estimulam o desenvolvimento vegetal e proteção das plantas contra patógenos. Podem colonizar todos os tecidos internos das

plantas, a superfície das folhas (filosfera) e os três planos rizosféricos separadamente: rizosfera, rizoplano e endosfera (GOMES et al., 2016).

O uso de tais organismos benéficos têm o papel de melhorar o estado nutricional das plantas hospedeiras, seja por meio da fixação de nitrogênio, da solubilização de fosfato, aumentando a disponibilidade de nutrientes na rizosfera, promovendo aumentos a área de superfície radicular ou aumentando a simbiose benéfica do hospedeiro. Geralmente, a promoção do crescimento é devido a uma combinação desses modos de ação (PÉREZ-MONTAÑO et al., 2014).

Diversos trabalhos têm relatado o aumento do crescimento de plantas e absorção de nutrientes em gramíneas a partir da inoculação com microrganismos considerados promotores do crescimento, sob condições de casa de vegetação ou campo (AGUIAR et al., 2015; BRENNECKE et al., 2016, BUENO et al., 2017). A maioria desses microrganismos promoveu efeitos significativamente positivos sobre a biomassa das culturas estudadas.

1.1.3 Microrganismos promotores de crescimento de planta

O crescimento de plantas, favorecido pelo uso de microrganismos, é uma técnica conhecida e á tempos empregada por agricultores (ROMEIRO, 2007). Estes microrganismos que colonizam as superfícies das raízes e a porção do solo que sofre influência do sistema radicular da planta contribuem através de ações que favorecem o crescimento das plantas no aumento da taxa de germinação, crescimento de raízes, aumento da área foliar, absorção de água e minerais, aumenta a tolerância a estresses bióticos e abióticos, podendo ser de forma direta ou indireta (LUCY; GLICK, 2004).

A promoção direta do crescimento ocorre quando um microrganismo, seja fungo ou rizobactéria, produz metabólitos que promovem diretamente o crescimento das plantas por meio do aumento da disponibilização de nutrientes, ou mesmo de forma indireta pela eliminação de microrganismos deletérios das raízes que possam prejudicar o crescimento das plantas (MELO, 1998).

Pesquisas recentes com isolados de bactérias apresentam este potencial, também chamada rizobactérias, são de grande importância. Filippi et al. (2011) alcançaram resultados positivos ao inocular plantas de arroz com isolados de *Pseudomonas fluorescens* BRM32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM32113 que ao promover o crescimento da planta, simultaneamente reduziram a severidade da brusone nas folhas. Resultados semelhantes foram encontrados por Rêgo et al. (2014) para a mesma cultura,

onde a interação entre plantas e microrganismos favoreceu a plasticidade radicular das plântulas de arroz, resultando em maior crescimento de plantas.

Lopes et al. (2018) também obtiveram resultados efetivos na promoção o crescimento em *B. brizantha* cv. Piatã, no qual procederam em aumentos na fotossíntese líquida e produção matéria seca total, dentre outros parâmetros. A inoculação de plantas jovens de açaizeiro com *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 e *Pseudoruegeria sabulilitoris strain* GJMS-35, promoveu aumento no crescimento, acúmulo de biomassa, maiores teores de nutrientes bem como melhorias em parâmetros fisiológicos em comparação ao controle (CASTRO, 2018).

Quanto aos fungos, o gênero *Trichoderma* tem merecido destaque, possuem diversas enzimas que favorecem a obtenção de nutrientes através da decomposição de substratos, além de produzirem compostos secundários com ação antibiótica e serem parasitas de outras espécies de fungos. Portanto o gênero apresenta um grande potencial para o desenvolvimento de produtos para o controle biológico de patógenos e promoção do crescimento (SCHUSTER; SCHMOLL, 2010).

Vale lembrar que, o gênero *Trichoderma* possui uma grande variedade de espécies com potencial para o biocontrole, trata-se de um micoparasita necrotrófico cuja ocorrência é comum, especialmente em solos orgânicos. A espécie é eficaz no controle de muitos fungos fitopatogênicos, inclusive daquelas que formam estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por micoparasitas, deste modo possuem relevante importância para o homem pela sua capacidade de produzir enzimas de interesse industrial e biocontrole contra patógenos de plantas (MELO, 1998).

A exemplo, também a produção de enzimas degradadoras de polissacarídeos como a celulase, é de suma importância para a indústria de biocombustíveis pelo seu potencial de decomposição da celulose (BASSO et al., 2010). Os resultados encontrados por Chagas et al. (2017) demonstram a capacidade do inoculante *Trichoderma asperellum*, em promover o crescimento inicial de plantas de milho e arroz, com aumentos superiores a 60% em relação ao tratamento controle.

REFERÊNCIAS:

AGUIAR, A. R.; AGUIAR, D.; TEDESCO, S. B.; DA SILVA, A. C. F. Efeito de metabólitos produzidos por *Trichoderma* spp. sobre o índice mitótico em células das pontas de raízes de *Allium cepa*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, 2015.

ANTONIOLLI, D. Produção, regularização e conquistas do mercado de gramas cultivadas no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE GRAMADOS - SIGRA-, 7., 2015, Botucatu. **Anais...** Botucatu: FCA/UNESP, 2015. p. 9 - 22.

BASSO, E. T.; GALLO, C. R.; BASSO, L. C. Atividade celulolítica de fungos isolados de bagaço de cana-de-açúcar e madeira em decomposição. Brasília: **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 45, n. 11, p. 1282-1289, 2010.

BACKES, C.; LIMA, C. P. de VILAS BÔAS, R. L.; FERNANDES, D. M. Resultados de pesquisas sobre a produção de grama: resistência e espessura de corte de tapetes. Simpósio sobre gramados. **Tópicos atuais em gramados II. Botucatu: FEPAF**, 2010.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 341 p. 2009.

BRENNECKE, K., BERTIPAGLIA, L. M. A., ANTONIAZZI, A., & SOUZA, E. F. Inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* no índice de crescimento da *Brachiaria decumbens* spp. Revista Acadêmica: **Ciência Animal**, v. 14, p. 217-224, 2016.

BUENO, A. C. S. O.; CASTRO, G. L. S.; SILVA JUNIOR, D. D.; PINHEIRO, H. A.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Response of photosynthesis and chlorophyll a fluorescence in leaf scald- infected rice under influence of rhizobacteria and silicon fertilizer. **Plant Pathology**, v. 66, n. 9, p. 1487-1495, 2017.

CASTRO, G. L. S. Rizobactérias promovem crescimento, aliviam os efeitos do déficit hídrico e reduzem antracnose em mudas de açaizeiro. 20018, 126 p. **Tese** (Doutorado em Agronomia/ Produção Vegetal) – Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, Belém, PA, 2018.

CHAGAS, L. F. B.; JUNIOR, A. F. C.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de agricultura neotropical**, v. 4, n. 3, p. 97-102, 2017.

CHARBONNEAU, P. Soil loss during sod production. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Ottawa. 2003. Disponível em www.omafra.gov.on.ca/english/crops/facts/info_sodprod.htm#loss (Acesso: 15 jun. 2018).

COELHO, L.F.; FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; AMBROSANO, G.M. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1413-1420, 2007.

FILIPPI, M. C. C.; DA SILVA, G. B.; SILVA-LOBO, V. L.; CÔRTEZ, M. V. C.; MORAES, A. J. G.; PRABHU, A. S. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and

growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. **Biological Control**, v. 58, n. 2, p. 160-166, 2011.

GODOY, L. J. G.; VILLAS BÔAS, R. L. Tecnologias para auxiliar o manejo da adubação na produção de gramas In: SIMPÓSIO SOBRE GRAMADOS, 5., 2010, Botucatu. Tópicos atuais em gramados II: **Anais**. Botucatu: UNESP, Faculdade de Ciências Agrônômicas, p. 92-102. 2010.

GODOY, L. J. G; VILLAS BÔAS, R. L.; BACKES, C. Produção de tapetes de grama Santo Agostinho submetida a doses de nitrogênio. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1703-1716, 2012.

GODOY, L.J.G. Adubação nitrogenada para produção de tapetes de grama santo agostinho e esmeralda. 2005, 106p. **Tese** (Doutorado em Agronomia/Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, SP, 2005.

GODOY, L.J.G.; VILLAS BÔAS, R.L. Nutrição e adubação para gramados. In: SIMPÓSIO SOBRE GRAMADOS, 1, 2003, Botucatu. Produção, implantação e manutenção: **Anais**. Botucatu: Departamento de Recursos Naturais, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2003.

GOMES, E.; SILVA, U. D. C.; PAIVA, C.; LANA, U. D. P.; MARRIEL, I.; dos SANTOS, V. L. Microrganismos promotores do crescimento de plantas. Embrapa Milho e Sorgo-Documents (INFOTECA-E) 2016.

GURGEL, R. A. G. Principais espécies e variedades de grama. In: SIMPÓSIO SOBRE GRAMADOS, 1, 2003, Botucatu. Produção, implantação e manutenção: **Anais**. Botucatu: Departamento de Recursos Naturais, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2003.

LOPES, M. J. S.; FILHO, M. B. D.; CASTRO, T. H. R.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Burkholderia pyrrocinia* on the Growth Improvement and Physiological Responses in *Brachiaria brizantha*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 02, p. 250, 2018.

LUCY, M.; REED, E.; GLICK, B. R. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van leeuwenhoek*, v. 86, n. 1, p. 1-25, 2004.

MELO, I. S. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. IN: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de (Ed.). *Ecologia microbiana*. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA. 488p, 1998.

MURDOCH, C., DEPUTY, J., HENSELY, D., TAVARES, J. Adaptation of turfgrasses in Hawaii. Honolulu: College tropical agriculture e Human resources, p. 4, 1998.

NASCENTE, A. S.; DE FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; DE SOUZA, A. C. A.; DA SILVA LOBO, V. L.; DA SILVA, G. B. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 3, p. 2956-2965, 2016.

NASCIMENTO, T. S. Sistema radicular das gramas cultivadas em gramaturas de geotêxtil sob irrigação subsuperficial. 2017. 61p. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia (Irrigação e Drenagem)) Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, SP, 2017.

PÉREZ-MONTAÑO, F.; ALÍAS-VILLEGAS, C.; BELLOGÍN, R. A.; DEL CERRO, P.; ESPUNY, M. R.; JIMÉNEZ-GUERRERO, I.; F.J. LÓPEZ-BAENA; OLLERO, F.J.; CUBO, T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. **Microbiological research**, v. 169, n. 5-6, p. 325-336, 2014.

RÊGO, M. C. F.; ILKIU-BORGES, F.; FILIPPI, M. C. C. D.; GONÇALVES, L. A.; SILVA, G. B. D. Morphoanatomical and biochemical changes in the roots of rice plants induced by plant growth-promoting microorganisms. **Journal of Botany**, v. 2014, 2014.

ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de doenças de plantas: fundamentos**. Viçosa: Editora UFV, 2007, 269p.

SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. Applied **Microbiology Biotechnology**. v. 87, p. 787-799, 2010

SOUSA, T. P.; SOUSA NETO, E. P.; SILVEIRA, L. R. S.; FILHO, E. F. S.; MARACAJÁ, P. B. Produção de alface (*Lactuca sativa* L.), em função de diferentes concentrações e tipos de biofertilizantes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 4, p. 168, 2014.

ZANON, M. E.; PIRES, E. C. Situação atual e perspectivas do mercado de grama no Brasil. In: SIGRA - Simpósio Sobre Gramados, 5., 2010, Botucatu. **Anais**. Botucatu: FCA/UNESP, 2010. p. 47 – 53

Microrganismos potenciais e incremento de biomassa em grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.)

***Artigo: Grass and Forage Science (Versão preliminar)**

RESUMO

A demanda emergente para a diminuição da dependência de fertilizantes minerais e da necessidade para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável aponta o uso de microrganismos como alternativa viável ao produtor. Objetivou-se selecionar potenciais promotores de crescimento e método de inoculação de plantas de grama esmeralda os comparando com a adubação mineral. No primeiro ensaio foram testados nove microrganismos (*Pseudomonas fluorescens* (BRM32111), *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113), *Pseudoruegeria sabulilitoris strain* GJMS-35(R-92), *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-61) e *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-58), *Trichoderma asperellum* (UFRA-T.06), *T. asperellum* (UFRA-T.09), *T. asperellum* (UFRA-T.12) e *T. asperellum* (UFRA-T.52)) e dois métodos de inoculação (rega e imersão). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 8x2 (controle/não inoculado, inoculado com *P. fluorescens* (BRM32111), inoculado com *B. pyrrocinia* (BRM32113), inoculados com *P. sabulilitoris strain* GJMS-35 (R-92), inoculados com *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), inoculados com *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), inoculado com mix composto por *P. fluorescens* (BRM32111) + *B. pyrrocinia* (BRM32113) e inoculados com mix de *T. asperellum* (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, e UFRA-T.52) em dois métodos de aplicação, rega e imersão), com quatro repetições, totalizando 64 unidades experimentais. O segundo ensaio, testou-se o desempenho do melhor método e melhor microrganismo em resposta à aplicação da adubação mineral em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x2 (calcário (sem NPK), calcário+NPK (ureia, superfosfato triplo e cloreto de potássio), NPⁿK (ureia, fosfato de Araxá e cloreto de potássio) e substrato (solo sem NPK/sem calagem); com e sem inoculação) com cinco repetições. No primeiro ensaio, o método de aplicação por rega, independente do isolado, proporcionou aumento de 65% em matéria seca total, enquanto que por imersão o aumento foi em 35% em relação ao controle. Análise de componentes principais revela que as variáveis matéria seca de raiz e altura de planta foram suficientes para explicar o maior percentual de variação dos dados. Maiores acréscimos foram alcançados por BRM32113, com ganhos de 156% e 92% em matéria seca de raiz e altura de plantas, respectivamente, em relação ao controle. No segundo ensaio, melhores resultados de crescimento em altura, matéria seca de raízes, área de cobertura verde do solo e teores de nutrientes em folha e raízes, foram alcançados na ausência da adubação. Plantas inoculadas por rega com *B. pyrrocinia* (BRS3211) e cultivadas em substrato tiveram acréscimos de 78% na MSR e 65% em AP. Acréscimos significativos também foram alcançados pela inoculação combinada com a adubação mineral. A rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRS3211) revelou-se competente em induzir o crescimento da planta de grama esmeralda, podendo ser inserido em um programa de manejo nutricional ecologicamente sustentável com potencial para uso em escala comercial.

Palavras-chaves: Rizobactérias. Método de inoculação. Desenvolvimento sustentável.

Selection of microorganisms with biofertilizer potential in emerald grams (*Zoysia japonica* Steud.)

Abstract

The emerging demand for a decrease in dependence on mineral fertilizers and the need for the development of sustainable agriculture points to the use of microorganisms as a viable alternative to the producer. The objective was to select potential growth promoters and inoculation method of emerald grass plants comparing them with mineral fertilization. In the first assay, nine microorganisms (*Pseudomonas fluorescens* (BRM32111), *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113), *Pseudoruegeria sabulilitoris* strain GJMS-35 (R-92), *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-61) and *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-58), *Trichoderma asperellum* (UFRA-T.06), *T. asperellum* (UFRA-T.09), *T. asperellum* (UFRA-T.12) and *T. asperellum* (UFRA-T.52) inoculation methods (irrigation and immersion). The experimental design was completely randomized in a factorial arrangement of 8x2 (control / non-inoculated, inoculated with *P. fluorescens* (BRM32111), inoculated with *B. pyrrocinia* (BRM32113) inoculated with *P. sabulilitoris* strain GJMS-35 (R-92) with *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), inoculated with *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), inoculated with mix composed of *P. fluorescens* (BRM32111) + *B. pyrrocinia* (BRM32113) and inoculated with mixtures of *T. asperellum* (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, and UFRA-T.52) in two application, irrigation and immersion methods), with four replicates, totaling 64 experimental units. In the second trial, the performance of the best method and the best microorganism in response to the application of mineral fertilization in a completely randomized design in a 4x2 factorial scheme (limestone (without NPK), limestone + NPK (urea, triple superphosphate and potassium chloride), NPⁿK (urea, Araxá phosphate and potassium chloride) and substrate (soil without NPK / without liming), with and without inoculation) with five replicates. In the first trial, the irrigation application method, independent of the isolate, provided a 65% increase in total dry matter, whereas by immersion the increase was 35% in relation to the control. Analysis of main components reveals that the root dry matter and plant height variables were sufficient to explain the highest percentage of variation of the data. Higher increases were achieved by *B. pyrrocinia* (BRM32113), with gains of 156% and 92% in root dry matter and plant height, respectively, in relation to the control. In the second trial, better results of height growth, root dry matter, green cover area and accumulation of leaf and root nutrients were achieved in the absence of fertilization. Plants inoculated by irrigation with *B. pyrrocinia* (BRS3211) and cultivated in substrate had increases of 78% in MSR and 65% in AP. Significant increases were also achieved by inoculation combined with mineral fertilization. The rhizobacteria *B. pyrrocinia* (BRS3211) proved to be competent in inducing the growth of the emerald grass plant and could be inserted into an ecologically sustainable nutritional management program with potential for commercial use.

Key-words: Rhizobacteria. Method of inoculation. Sustainable development.

2 Introdução

A adubação mineral representa uma prática usual para a manutenção dos gramados, que por vezes apresenta um crescimento lento, porém o uso intensivo desses produtos está associado a riscos ambientais, o que levanta uma preocupação em torno da poluição gerada e os impactos ambientais, como a eutrofização e acidificação dos solos e contaminação dos lençóis freáticos, pela liberação de compostos nitrogenados (GUPTA et al., 2012). Considerando ainda que o uso de adubos químicos, em vias de regra, podem proporcionar queimadura no gramado, depreciando o aspecto visual e físico do gramado, devido à alta higroscopicidade característica de determinados fertilizantes, que possuem alta capacidade de absorver água do ar, mesmo em baixa umidade, podendo também absorver água da folha da grama, causando uma queima desta pela desidratação rápida (GODOY; VILLAS BÔAS, 2003).

Neste sentido, surge o interesse em alternativas mais sustentáveis, visando a diminuição ou substituição do uso de produtos químicos, fato esse que se deve a uma maior conscientização sobre a preservação do meio ambiente (BETTIOL; MORANDI, 2009). Alinhado a este interesse, o uso de microrganismos promotores do crescimento de plantas apresentam grande potencialidade de uso. Bactérias e fungos que exercem efeitos benéficos, disponibilizando nutrientes para as plantas, seja pela solubilização de fosfato inorgânico, pela produção de fitormônios ou pelo maior crescimento das raízes, favorecendo a absorção de água e nutrientes (MACHADO et al., 2012).

Fungos do gênero *Trichoderma* são uns dos principais microrganismos de importância para o aumento do crescimento vegetal. Chagas et al. (2017), ao testar a ação de *Trichoderma* spp. inoculado em solo fertilizado com fosfato natural, afirma efeitos favoráveis na promoção do crescimento e eficiência no uso do fósforo em plantas de arroz em ambiente controlado.

A ação benéfica de rizobactérias também se destacam por Lopes et al. (2018), estes autores relatam acréscimos em variáveis fisiológicas, morfológica e bioquímicas em *Brachiaria* (Syn. *Urochloa*) *brizantha* cv. BRS Piatã inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM32111) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113). Resultados semelhantes foram obtidos por Brennecke et al. (2016) em que *P. fluorescens* promoveu incrementos nas taxas de alongamento de colmo e do número de folhas em *B. decumbens* cv. Basilisk, características desejáveis do ponto de vista nutricional.

Deste modo, o uso de microrganismos promotores de crescimento pode acelerar o crescimento de plantas de grama esmeralda, podem aumentar a disponibilidade de nutrientes essenciais, contribuindo para o manejo da fertilidade do solo, favorecendo o crescimento e desenvolvimento vegetal. Tendo em vista, a importância que os microrganismos considerados promotores do crescimento, exercem sobre as plantas, tanto no que diz respeito a sustentabilidade como na redução dos impactos ambientais, busca-se selecionar isolados eficientes na promoção do crescimento de grama esmeralda, identificar o melhor método de inoculação, utilizando rizobactérias e fungos do gênero *Trichoderma*, bem como seu desempenho mediante o uso da adubação mineral.

3 Material e métodos

3.1 Seleção de isolados e do método de inoculação

Para este ensaio compete a obtenção de um isolado e método de inoculação mais promissores a promoção de crescimento de grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.).

3.1.1 Local de estudo, material vegetal e inoculante

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, 01° 27' 19" de latitude Sul e 48° 26' 19" de longitude a oeste de Greenwich, Brasil. O clima local é do tipo Af, segundo Köpper. As mudas utilizadas foram provenientes de placas comerciais de 42 x 60 cm, as quais foram desmembradas em plugs de 25 cm², os quais foram cultivados em vasos de polietileno com 2,5 L de volume e área de superfície de 226,87 cm² preenchidos com solo (Latosolo Amarelo Distrófico típico- pH, 4,63; matéria orgânica, 22,90 g/dm³; P, 3,60 mg/dm³; Nitrogênio, 1,8 g/dm³; K, 0,034 cmol_c/dm³; Ca²⁺, 0,19 cmol_c/dm³; Al⁺, 1,50 cmol_c/dm³; Mg²⁺, 0,66 cmol_c/dm³; H+Al, 9,63 cmol_c/dm³), submetido a calagem correspondente a 3 t ha⁻¹ de calcário dolomítico, conforme Silva (2003).

Foram utilizados *Pseudomonas fluorescens* (BRM32111); *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113); *Pseudoruegeria sabulilitoris strain* GJMS-35 (R-92); *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-61); *Bacillus thuringiensis* YBT-1518 (R-58); Mix bacteriano composto por *Pseudomonas fluorescens* (BRM32111) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113) e Mix de *Trichoderma asperellum* (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, e UFRA-T.52), fornecidos pelo Laboratório de Proteção de Plantas da

Universidade Federal da Amazônia, e originalmente selecionados, conforme Silva et. al (2012), foram multiplicados e isolados conforme, Rêgo et. al (2014).

Os microrganismos foram aplicados por dois métodos de inoculação: Rega (fornecimento de suspensão microbiana na forma de água de rega (50 mL) a ser despejado sobre os plugs já plantados de forma única) e Imersão (imersão de plugs de grama esmeralda em 50 mL das suspensões microbianas por 30 minutos), em seguida os plugs foram plantados. Todas as mudas foram submetidas ao mesmo regime hídrico, mantendo a umidade próximo a 60% da capacidade de campo pelo método de pesagem direta seguindo a metodologia de Klar et al. (1966) e Bernardo (1987).

3.1.2 Variáveis de crescimento vegetal

Aos 45 dias após o plantio foram determinados os seguintes parâmetros: altura de plantas (AP), em cm, com o auxílio de uma régua graduada; matéria seca das aparas (MSA), em g.vaso⁻¹; matéria seca de estolão (MSE), em g.vaso⁻¹; matéria seca de raízes (MSR), em g.vaso⁻¹, obtidos por meio da secagem em estufa (65 ° C) até massa constante. A matéria seca total, em g vaso⁻¹, foi obtida a partir da soma dos valores da MSA, MSR e MSE e o índice de coloração verde (ICV) da folha, obtido através de um aparelho portátil Chlorophyll Meter, modelo SPAD-502 (Soil and Plant Analysis Development) posicionado a área de medida no centro da lâmina foliar totalmente expandida, tomando-se uma medida por folha em cinco folhas, obtendo-se uma média por vaso (BACKES et al., 2010).

3.1.3 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 8x2 (controle/não inoculado, inoculado com *P. fluorescens* (BRM32111), inoculado com *B. pyrrocinia* (BRM32113), inoculados com *P. sabulilitoris strain* GJMS-35 (R-92), inoculados com *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), inoculados com *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), inoculado com mix composto por *P. fluorescens* (BRM32111) e *B. pyrrocinia* (BRM32113) e inoculados com mix de *T. asperellum* (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, e UFRA-T.52) em dois métodos de aplicação, rega e imersão), com quatro repetições, totalizando 64 unidades experimentais.

As médias de matéria seca total para os dois métodos de inoculação foram submetidas a análise de variância e as comparações das médias foram realizadas utilizando o teste Tukey ($p \leq 0.05$). A análise de componentes principais, também denominada de PCA, foi empregada para examinar as variações nas variáveis de

resposta e verificar quais destes contribuíram na distinção dos tratamentos obtendo, portanto, duas variáveis de análise que capture a maior variação nos tratamentos. O critério adotado para escolha do número de componentes foi selecionar aqueles que apresentassem autovalor acima de 1,00 e conseguissem sintetizar uma variância acumulada acima de 70% (HAIR et al., 2005).

3.2 Rizobactéria promotora do crescimento de grama esmeralda (*Zoysia japonica* Steud.) x adubação mineral do solo

O isolado de *B. pyrrocinia* (BRM32113) e o método de inoculação por rega foram selecionados conforme o item 3.1, neste ensaio, seu desempenho foi comparado ao uso da adubação mineral no solo.

3.2.1 Local de estudo, material vegetal e inoculante

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no município de Santa Izabel do Pará, Pará, 01°17'55" de latitude Sul e 48°09'38" de longitude a oeste de Greenwich, Brasil. O clima local é do tipo Afi, segundo Köpper. As mudas foram adquiridas conforme o item 3.1.1, as quais foram desmembradas em discos de aproximadamente 226, 87 cm² de forma a preencher toda a área superficial do vaso de polietileno com 2,5 L, preenchidos com solo (Latosolo Amarelo - pH, 4,09; matéria orgânica, 27,45 g/dm³; P, 4,35 mg/dm³; Nitrogênio, 0,72 g/dm³; K, 0,66 cmol_c/dm³; Ca²⁺, 0,21 cmol_c/dm³; Al⁺, 1,48 cmol_c/dm³; Mg²⁺, 0,55 cmol_c/dm³; H+Al, 7,36 cmol_c/dm³). Deste foram removidos um disco de 5,4 cm de diâmetro para determinação da área de cobertura verde do solo. Os critérios de determinação da necessidade de correção solo, o regime hídrico conforme, a obtenção do isolado e forma de aplicação, descrito no subitem 3.1.1 e tiveram seu desempenho comparados a adubação mineral do solo.

3.2.2 Variáveis de crescimento vegetal

Foram determinados os seguintes parâmetros: altura de plantas (AP), em cm e matéria seca de raízes (MSR), em g vaso⁻¹, obtidos conforme o item 3.1.2.

3.2.3 Avaliação da área de cobertura verde do solo

A área de cobertura do solo e o fechamento do gramado, em cada vaso, foram feitos por meio de fotos digitais feitas quinzenalmente após o plantio, capturadas com

uma câmera digital Samsung WB30F, de 16.2 megapixels com lente de zoom óptico de 10x, grande angular equivalente a 24 mm, fixada em uma estrutura denominada caixa de luz (0,5 x 0,6 m), semelhante à confeccionada por Peterson et al. (2011). As imagens foram analisadas pelo programa QUANT[®] de acordo com Santos Junior, (2011).

3.2.4 Teores de nutrientes

Amostras das aparas e raízes das gramas foram secas e moídas conforme o item 3.1.2, e submetido à digestão nítrico-perclórica (TEDESCO et al., 1995). Os teores de Ca e Mg foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica; o teor de K, por fotometria de chama; e o P por espectrofotometria. O nitrogênio (N) foi extraído por digestão sulfúrica e determinados pelo método kjeldahl, conforme descrito por Silva (2009).

3.2.5 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 4x2, (calcário (sem NPK), calcário + NPK (ureia, superfosfato triplo e cloreto de potássio), NPⁿK (ureia, Fosfato de Araxá e cloreto de potássio) e substrato (solo sem NPK/sem calagem) com e sem inoculação de *B. pyrrocinia* aplicada por rega), com cinco repetições, totalizando 40 unidades experimentais. As doses de NPK foram 50 kg de N de ha⁻¹, 140 kg P₂O₅ ha⁻¹ e 100 kg K₂O ha⁻¹, respectivamente, conforme Cravo et al. (2007). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as comparações das médias de cada indivíduo, foram realizadas utilizando o teste Tukey ($p \leq 0.05$).

4 Resultados

4.1 Seleção de isolados e do método de inoculação

Os dois métodos de aplicação de microrganismos promoveram o crescimento da grama. A aplicação por rega aumentou em média de 65% em matéria seca total enquanto que por imersão o aumento foi 35% superior, em relação às plantas controle (Tabela 1). A rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRM32113) promoveu o maior acúmulo de matéria seca total, em média de 122% e 64% por rega e imersão, respectivamente (Tabela 1).

Os dois primeiros componentes principais (PC's) foram responsáveis por 88% da variação total dos dados (Tabela 2). O PC1 foi responsável por 77% de análise e o

PC2, responsável por 11% da informação contida no conjunto original das cinco variáveis. A partir da segunda componente principal ocorreu um decréscimo brusco das taxas. Os valores são representados graficamente por meio do *scree plot*, no qual estão plotados a proporção da variação e contribuição de cada variável para explicação da variância total (Figura 1). As variáveis MSR e AP explicam maior parte da variância total dos dados, contribuindo cada uma com 18%.

Tabela 1: Efeito dos microrganismos e métodos de inoculação na produção de matéria seca total de grama esmeralda (*Z. Japonica* Steud.).

Tratamentos	Matéria seca total (g vaso ⁻¹)	
	Método de inoculação	
	Rega	Imersão
Controle	8,57±0,29 e	8,88±0,32 d
BRM32111	17,45±0,57 b*	12,91±0,51 b
BRM32113	19,04±0,62 a*	14,55±0,68 a
R-92	13,21±0,58 c	12,52±0,76 b
R-61	12,47±0,19 cd*	10,94±0,81 c
R-58	13,54±0,13 c*	10,80±0,49 c
Mix Bacteriano	11,50±1,08 d	11,57±0,64 bc
Mix Trichoderma	11,44±0,53 d*	10,32±0,78 c
CV%	7,63	4,88

Médias seguidas de asteriscos registram a comparação entre métodos de inoculação. Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si ($p \leq 0.05$, Teste Tukey). BRM32111=*P. fluorescens*; BRM32113=*B. pyrrocinia*; R-92=*P. sabulilitoris* strain GJMS-35, R-61=*B. thuringiensis* YBT-1518, R-58=*B. thuringiensis* YBT-1518, BRM32111+BRM32113= mix bacteriano e mix de *T. asperellum*= UFRA-T.06+ UFRA-T.09+ UFRA-T.12+ UFRA-T.52.

Tabela 2. Componentes principais (PCs), autovalores da matriz de correlação e estatística relacionada. Método de inoculação por rega.

	Autovalores	Variância total (%)	Autovalores acumulativos	Acumulada (%)
PC 1	3,836	76,721	3,836	76,721
PC 2	0,565	11,318	4,402	88,040

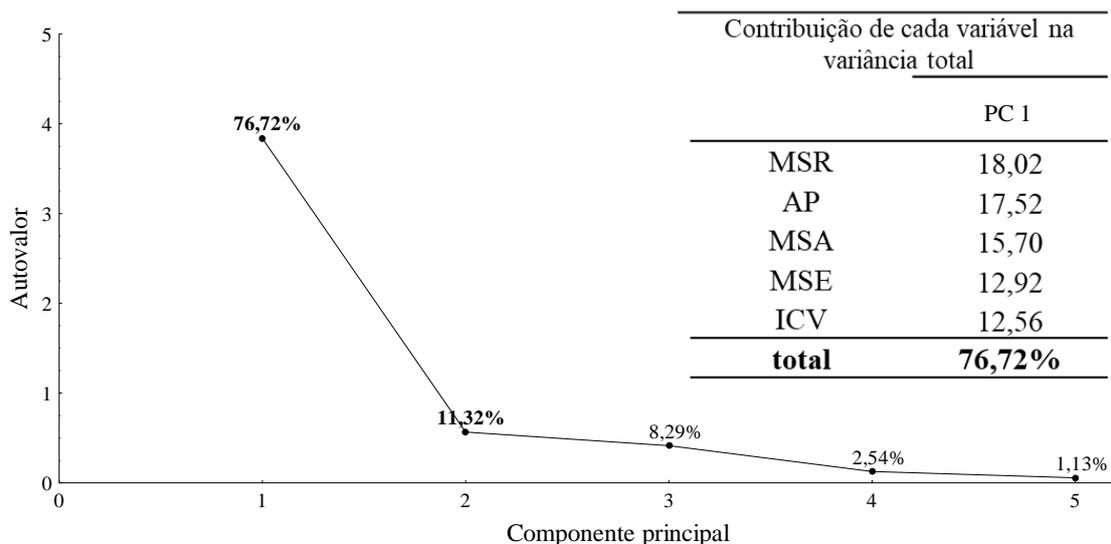


Figura 1. Proporção da variação no conjunto de dados explicada pelo componente principal (PC) e contribuição de cada variável (matéria seca de raiz (MSR), altura de plantas (AP), matéria seca das aparas (MSA), matéria seca de estolão (MSE) e índice de coloração verde (ICV)) para explicação da variância total pelo método “*scree plot*”. Método de inoculação por rega.

As variáveis MSA, MSE e ICV apresentam baixo poder discriminatório entre as variáveis determinadas, com contribuições a variância total menor que, em média, 15%, permitindo o descarte dessas variáveis, favorecendo a otimização do conjunto original (Figura 1). Os fatores extraídos por análise de componentes principais apresentam os valores absolutos elevados, acima de 0,7, indicando forte correlação entre o PC1 e as variáveis originais, porém, as mais representativas da ação microbiana foram sobre a MSR e AP (Tabela 3).

A análise revelou uma distinção marcante entre dois grupos, um grupo composto pelas plantas controle, contidos na elipse menor e o grupo formado pelas rizobactérias *P. fluorescens* (BRM32111) e *B. pyrrocinia* (BRM32113), contidos na elipse maior. Os demais tratamentos permanecem dispersos, configurando pouca relação com as variáveis analisadas (Figura 2). As variáveis de análise MSR e AP apresentaram contribuições similares para o CP1, representadas por vetores próximos ao círculo unitário, de maior comprimento, alinhadas ao eixo da PC1 e com pequeno ângulo em relação ao eixo das abscissas (Figura 2).

Todos os microrganismos estimularam crescimento de grama esmeralda, em média de 58% para AP, em 91% MSR em relação ao controle. O aumento máximo foi para as plantas inoculadas com BRM32113, em média de 92% para AP e 156% de MSR (Figura 3). Os demais microrganismos induziram aumentos variando, em média, entre 85% e 25% para AP e entre 130% e 57% para MSR.

Tabela 3. Fatores extraídos por análise de componentes principais, enfatizando variáveis de análise (matéria seca de raiz (MSR), altura de plantas (AP), matéria seca das aparas (MSA), matéria seca de estolão (MSE) e índice de coloração verde (ICV) com carga acima de 0,7 (em módulo) sob diferentes tratamentos. Os asteriscos registram valores mais discriminatórios.

Variáveis	Componentes Principais	
	PC 1	PC 2
MSA	-0,8859*	0,4172
MSR	-0,9493*	0,2443
MSE	-0,8039*	-0,2134
AP	-0,9359*	-0,0061
ICV	-0,7925*	-0,5354

Médias seguidas de asteriscos registram valores mais significativos.

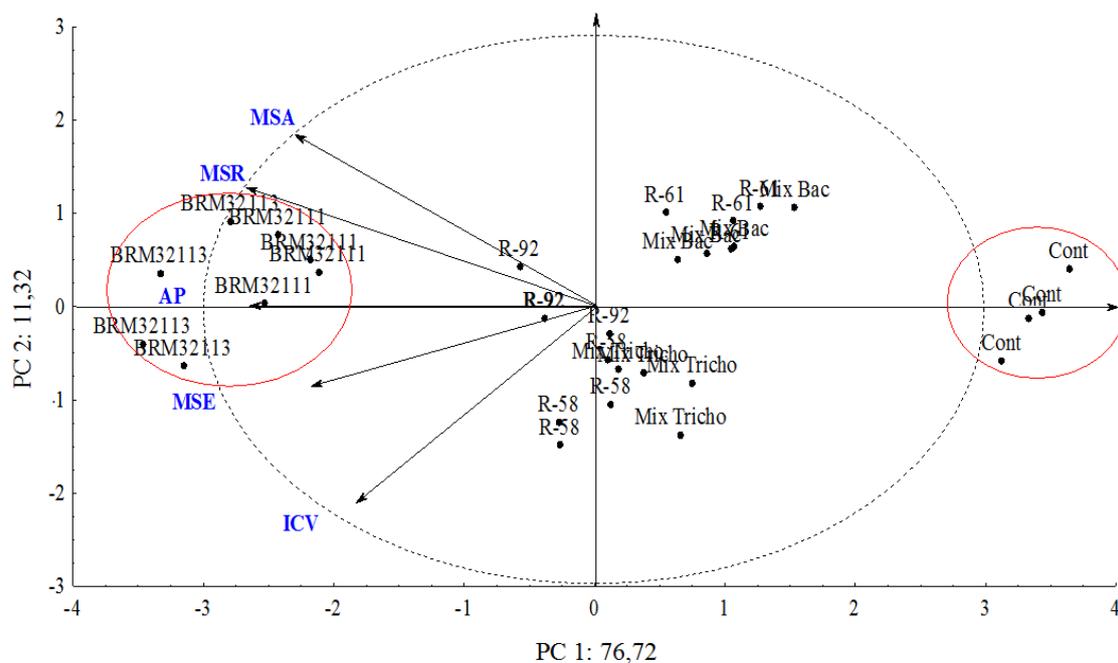


Figura 2. Escores das duas primeiras componentes principais das variáveis de análise (matéria seca de raiz (MSR), altura de plantas (AP), matéria seca das aparas (MSA), matéria seca de estolão (MSE) e índice de coloração verde (ICV)) em diferentes tratamentos: Controle, *P. fluorescens* (BRM32111), *B. pyrrocinia* (BRM32113), *P. sabulilitoris strain* GJMS-35 (R-92), *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), mix bacteriano composto por *P. fluorescens* (BRM32111) e *B. pyrrocinia* (BRM32113) e mix de *T. asperellum* composto por (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, e UFRA-T.52) em plantas de grama esmeralda. O comprimento de cada autovetor é proporcional à variância obtida para os resultados de quantificação de cada variável. Método de inoculação por rega.

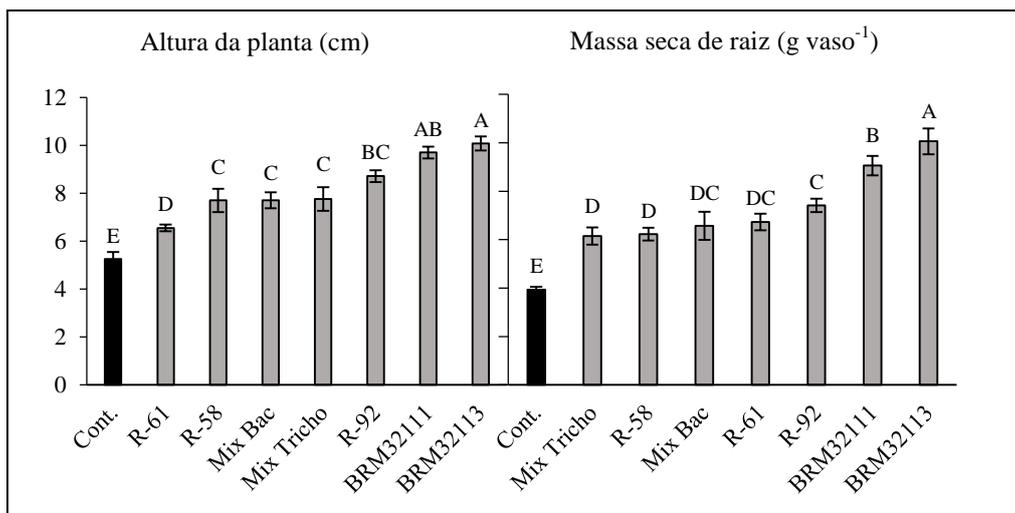


Figura 3: Altura de plantas e matéria seca de raiz (MSR) nos diferentes tratamentos: Controle, *P. fluorescens* (BRM32111), *B. pyrrocinia* (BRM32113), *P. sabulilitoris strain* GJMS-35 (R-92), *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-61), *B. thuringiensis* YBT-1518 (R-58), mix bacteriano composto por *P. fluorescens* (BRM32111) e *B. pyrrocinia* (BRM32113) e mix de *T. asperellum* composto por (UFRA-T.06, UFRA-T.09, UFRA-T.12, e UFRA-T.52) em plantas de grama esmeralda. Método de inoculação por rega. Colunas com letras diferentes denotam diferenças significativas entre os tratamentos ($p \leq 0,05$, teste de média Tukey). Os valores referem-se à média de quatro repetições \pm DP.

4.2 Efeitos da inoculação por *Burkholderia pyrrocinia* x adubação mineral do solo

Conforme a seleção, o método de inoculação por rega e a rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRM32113), foram comparados a adubação mineral. Todos os tratamentos inoculados induziram aumentos na produção de matéria seca de raiz (MSR) e altura de plantas (AP), comparados aos não inoculados, exceto para o tratamento NPⁿK. Plantas inoculadas e cultivadas em substrato tiveram acréscimos de 78% na MSR e 65% em AP, se comparadas ao tratamento não inoculado (Figura 4).

Os teores de nutrientes, tanto em folhas quanto em raízes de grama esmeralda, foi influenciado positivamente pela inoculação com a rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRM32113) (Tabela 4 e 5), exceto quando combinado ao uso do NPⁿK. Nas folhas, a rizobactéria induziu maiores acréscimos nos teores de nutrientes para os tratamentos calcário e substrato (Tabela 4), em média, com 258 e 59% para nitrogênio (N), 17 e 61% para fosforo (P), 58 e 56% para potássio (K), 12 e 86% para cálcio (Ca) e 25 e 54% para magnésio (Mg), quando comparados com plantas não inoculados. Porém, para o tratamento com NPⁿK, houve redução desses teores com quedas de até 40%, no caso do nitrogênio (N) permanecendo elevado apenas para teores de magnésio (Mg), quando comparados com plantas não inoculados.

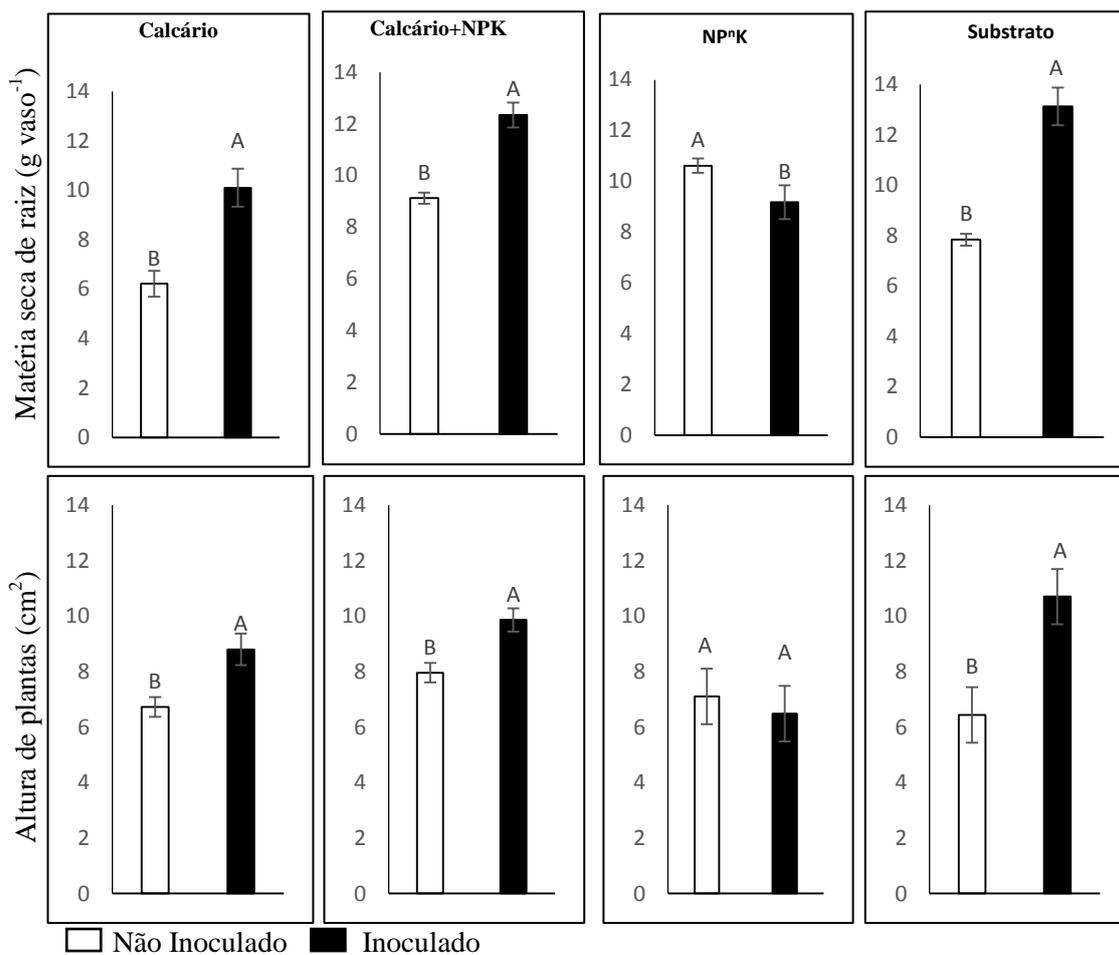


Figura 4: Efeitos da inoculação por rega de *B. pyrrocinia* na matéria seca de raiz (MSR) e altura de plantas (AP) em plantas de grama esmeralda. Colunas com letras diferentes denotam diferenças significativas entre os tratamentos ($p \leq 0,05$, teste de média Tukey). Os valores referem-se à média de cinco repetições \pm DP. Inoculados (com preenchimento) e não inoculados (sem preenchimento). N (ureia como fonte de nitrogênio); P (Superfosfato triplo como fonte de fósforo); Pⁿ (Fosfato de Araxá como fonte de fósforo); K (Cloreto de potássio como fonte de potássio).

Tabela 4. Efeitos da inoculação de *B. pyrocinia* nos teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em folhas grama esmeralda.

Nutriente	Teores de Nutrientes em folhas g kg ⁻¹							
	Calcário		Calcário+NPK		NP ⁿ K		Substrato	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
N	6,55±0,99d	23,44±0,74b*	30,01±0,37a	33,92±0,63a*	8,93± 0,63c*	5,36±0,63c	14,58±0,96b	23,21±0,63b*
P	1,83±0,01b	2,15±0,09a*	2,19±0,04a	2,01±0,01b	1,88±0,03b*	1,20±0,01c	1,34±0,01c	2,16±0,02 a*
K	2,79±0,29c	4,42±0,29b*	5,52±0,08a	5,13±0,08a	5,33±0,21a*	3,70±0,14c	3,25±0,08b	5,07±0,14a*
Ca	5,79±0,53a	6,47±0,26a*	4,75±0,39b	6,66± 0,42a*	4,73±0,06b	4,48±0,23b	1,60±0,05c	2,98±0,07c*
Mg	0,72±0,05c	0,9±0,01d	1,09±0,02b	1,29±0,02c	2,1±0,010a	3,36±0,48a*	1,02±0,11Bc	2,59±0,03b*

Médias seguidas de asteriscos denotam diferenças significativas entre métodos (Inoculados (I) e não inoculados (NI)). Os valores referem-se à média de cinco repetições ($p \leq 0,05$, teste de média Tukey). Linhas com letras minúsculas diferentes denotam diferenças significativas dentre tratamentos. N (ureia como fonte de nitrogênio); P (Superfosfato triplo como fonte de fósforo); Pⁿ (Fosfato de Araxá como fonte de fósforo); K (Cloreto de potássio como fonte de potássio).

Tabela 5. Efeitos da inoculação *B. pyrocinia* nos teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em raízes grama esmeralda.

Nutrientes	Teores de Nutrientes em raízes g kg ⁻¹							
	Calcário		Calcário+NPK		NP ⁿ K		Substrato	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
N	13,39±0,63b	26,24±1,02a*	23,38±1,16a	26,33±0,45a*	21,72±0,36a	21,96±1,02 b	7,36±0,74c	20,53±0,63b*
P	0,60±0,04b	0,81±0,03a*	0,73±0,02a	0,75±0,02b	0,47±0,03c	0,51±0,07c	0,51±0,01c	0,78±0,02 ab
K	1,43±0,08b	3,36±0,25b*	2,61±0,26a	3,78±0,11a*	2,73±0,19b	2,53±0,14c	2,83±0,17b	3,3±0,19b*
Ca	2,33±0,13b	3,45±0,11a*	2,51±0,46b	3,28±0,06ab*	3,05±0,16a	3,52±0,06a	2,18±0,10b	2,78±0,68b
Mg	0,34±0,03c	0,42±0,03b	0,44±0,04b	0,62±0,03b	0,33±0,05c	0,23±0,03d	0,68±0,04a	1,35±0,06a*

Médias seguidas de asteriscos denotam diferenças significativas entre métodos (Inoculados (I) e não inoculados (NI)). Os valores referem-se à média de cinco repetições ($p \leq 0,05$, teste de média Tukey). Linhas com letras minúsculas diferentes denotam diferenças significativas dentre tratamentos. N (ureia como fonte de nitrogênio); P (Superfosfato triplo como fonte de fósforo); Pⁿ (Fosfato de Araxá como fonte de fósforo); K (Cloreto de potássio como fonte de potássio).

Nas raízes a inoculação com *B. pyrrocinia* (BRM32113), favoreceu acréscimos positivos aos teores de nutrientes, entretanto de forma mais sutil (Tabela 5), se comparado ao observado em folhas. Plantas em solo calcariado e somente em substrato apresentaram aumentos de 96 e 179% para teor de nitrogênio (N), 35 e 53% para fósforo (F), 135 e 17% para potássio(K), 48%, em relação às plantas não inoculadas. O aumento no teor de magnésio (Mg) 99% foi observado somente para plantas em substrato calcariado.

Os valores de potencial de hidrogeniônico (pH), nitrogênio (N), potássio (K), íon cálcio (Ca^{2+}), íon magnésio (Mg^{2+}) e acidez potencial (H+Al), sofreram pouca ou nenhuma influência ao final do experimento quando inoculado com *B. pyrrocinia* (BRM32113) no diferentes tratamentos (Tabela 6). Os tratamentos calcário e substrato induziram maiores acréscimos nos teores de matéria orgânica (M.O) e fósforo (P) com valores, em média de 43 e 62%, respectivamente, quando comparados com tratamentos não inoculado.

A área de cobertura verde do solo sofreu influência positiva com a inoculação com rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRM32113) nas plantas cultivadas em solo calcariado (27%) e em substrato (34%) aos 45 dias se comparadas ao controle (Tabela 7 e 8). O tratamento utilizando apenas o substrato inoculado, obtiveram acréscimos de até 100%, em média 55% superior ao tratamento NP^nK , comparadas a avaliação inicial.

Tabela 6 – Caracterização química do Latossolo Amarelo, amostrado ao final do experimento, nos diferentes tratamentos (Calcário; Calcário+NPK; NPⁿK e substrato) inoculados (I) e inoculados (NI) com rizobactéria *Burkholderia pyrrocinia* -BRM32113.

Atributos		Caracterização química do solo							
		Calcário		Calcário + NPK		NP ⁿ K		Substrato	
		NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
pH		5,58±0,59a	5,46±0,20a	5,25±0,06a	5,41±0,19a	5,13±0,12Aa	5,25±0,25a	4,98±0,35a	5,45±0,44a
M.O	g dm ⁻³	17,41±0,18ab	24,87±0,65a*	43,53±0,89a*	27,98±0,49a	32,65±1,21ab	36,69±0,61a*	32,96±0,81a	37,31±0,59a*
P	mg dm ⁻³	18,61±0,57b	30,07±0,94a*	37,68±0,37a	37,34±0,79a	21,04±0,16b	21,11±0,93a	26,07±0,61ab	30,48±0,52a*
N	g kg ⁻¹	1,26±0,17a	1,14±0,11a	1,43±0,15 ^a	1,37±0,06a	1,40±0,12a	1,20±0,18a	1,20±0,20a	1,00±0,04 a
K		0,05±0,01b	0,05±0,01a	0,16±0,01ab	0,18±0,03a	0,25±0,04a*	0,11±0,01a	0,07±0,01b	0,13±0,02a*
Ca ²⁺	cmol _c dm ⁻³	4,60±0,20a*	2,80±0,03a	2,50±0,08ab	2,20±0,08a	1,10±0,01b	1,20±0,20b	1,50±0,20b	1,80±0,31b
Mg ²⁺		2,40±0,46a	2,00±0,04a	1,80±0,17ab	1,60±0,45 a	0,90±0,01 b	0,90±0,05 a	1,70±0,17 ab	2,00±0,12 a
H+Al		3,04±0,01 a*	2,06±0,08a	2,16±0,16ab	1,57±0,14b	2,45±0,19a	2,45±0,25a	1,47±0,08b	2,25±0,24a

Médias seguidas de asteriscos denotam diferenças significativas entre métodos (Inoculados (I) e não inoculados (NI)). Os valores referem-se à média de cinco repetições ($p \leq 0,05$, teste de média Tukey). Linhas com letras minúsculas diferentes denotam diferenças significativas dentre tratamentos. N (ureia como fonte de nitrogênio); P (Superfosfato triplo como fonte de fósforo); Pⁿ (Fosfato de Araxá como fonte de fósforo); K (Cloreto de potássio como fonte de potássio).

Tabela 7 – Efeitos da inoculação de *B. pyrrocinia* na área de cobertura verde do solo em plantas de grama esmeralda, aos 0, 15, 30 e 45 dias após o plantio e inoculação.

Intervalo de avaliação	Área de cobertura verde cm ²							
	Calcário		Calcário + NPK		NP ⁿ K		Substrato	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
0dias	149,16±9,20a	148,75±8,96a	150,13±12,31a	150,83±11,11a	150,42±10,98a	149,26±12,54a	149,30±12,20a	149,94±12,04a
15dias	172,21±12,90b	209,44±15,62b*	211,92±11,01a	208,63±10,01b	196,45±13,08a	193,90±13,88b	195,72±14,65a	316,63±14,15a*
30dias	229,27±9,87b	303,92±15,14a*	264,52±14,86a	270,32±13,93b	215,04±11,12b	209,09±9,35c	214,27±11,29b	308,82±14,35a*
45dias	248,78±15,63b	315,87±16,73a*	299,62±19,47a	289,03±17,81a	223,75±14,61b	216,15±9,35b	224,98±14,40b	300,60±19,00a*

Médias seguidas de asteriscos denotam diferenças significativas entre métodos (Inoculados (I) e não inoculados (NI)). Os valores referem-se à média de cinco repetições ($p \leq 0,05$, teste de média Tukey). Linhas com letras minúsculas diferentes denotam diferenças significativas dentre tratamentos. N (ureia como fonte de nitrogênio); P (Superfosfato triplo como fonte de fósforo); Pⁿ (Fosfato de Araxá como fonte de fósforo); K (Cloreto de potássio como fonte de potássio).

Tabela 8 – Imagens da cobertura verde do solo em plantas de grama esmeralda, aos 0, 15, 30 e 45 dias após o plantio e inoculação.

Cobertura verde do solo em grama esmeralda (<i>Zoysia japonica</i> Steud.)					
Intervalo de coleta					
Trat.	Mét.	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias
Calcário	NI				
	I				
Calcário + NPK	NI				
	I				
NP ⁿ K	NI				
	I				
Substrato	N				
	I				

Inoculados (I) e não inoculados (NI) com rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRM32113). N (ureia como fonte de nitrogênio); P (Superfosfato triplo como fonte de fósforo); Pⁿ (Fosfato de Araxá como fonte de fósforo); K (Cloreto de potássio como fonte de potássio).

5 Discussão

O efeito benéfico dos microrganismos em promover o crescimento vegetal é descrito por diversos autores (BRENNECKE et al., 2016, NASCENTE et al., 2017; KUMAR et al., 2018). Na produção comercial de tapetes de grama, após a colheita dos tapetes do ciclo anterior, objetiva-se um crescimento rápido dos estolões, raízes e parte aérea da grama, resultando na formação de tapetes, ao longo dos próximos ciclos, com qualidade satisfatória à comercialização (CARRIBEIRO, 2014). No presente estudo, estruturado em dois ensaios, a ação microbiana influenciou positivamente no crescimento de plantas de grama esmeralda (*Z. japonica* Steud.), evidenciado pelos maiores acúmulos de matéria seca de parte aérea e em altura de plantas.

No primeiro ensaio, todos os microrganismos estimularam o acúmulo de matéria seca total de plantas de grama esmeralda, principalmente quando a aplicação foi por rega (Tabela 1). Estudos mostram que para potencializar o crescimento pela associação planta-microrganismo, os experimentos devem ser selecionados em condições ecológicas específicas, com seleção massal de isolados, variados métodos de aplicação (PÉREZ-MONTAÑO et al., 2014; LOPES et al., 2018) e que tais métodos de aplicação sejam efetivos e simples de usar, garantindo a colonização microbiana (AFZAL et al., 2013). Em *Brachiaria*, foi verificado grande variação na promoção do crescimento em função do método de aplicação do microrganismo, onde o método por rega também estimulou em maior ganho de matéria seca total, aumentos nos valores de área foliar e número de perfilhos (LOPES et al., 2018).

Melhores resultados obtidos pela inoculação por rega podem estar relacionados ao maior tempo de contato do microrganismo com o sistema radicular do gramado, se comparado ao método de inoculação por imersão. Neste caso, o maior tempo de contato com a rizosfera favorece o encontro físico entre a bactéria e a planta, promovendo o estabelecimento do *quorum sensing*, um mecanismo regulatório que permite a adaptação microbiana por meio de sinalização química às condições instáveis, essa compreensão de sinais permite que células bacterianas individuais percebam a si e a outros indivíduos adaptando-se ao ambiente de crescimento, regulando o tamanho das populações, favorecendo a colonização inicial do tecido vegetal e favorecendo a expressão de genes associados à promoção do crescimento da planta hospedeira (OLIVEIRA et al., 2003).

Em grama, as variáveis e parâmetros utilizados para avaliar crescimento ainda não são padronizados, assim nesse estudo adotou-se a análise de componentes

principais (CP) a fim de identificar as componentes principais (PC's) necessárias para explicar a variância total dos parâmetros examinados, bem como, averiguar quais variáveis de análise apresentam maior peso na variação total dos dados originais retida pelo CP1, conforme Kaiser, 1960, apud Mardia (1979). Nesta pesquisa, maior percentual da variância total foi retida para PC1 (Tabela 2) com maiores contribuições geradas pelas variáveis de análise MSR e AP (Figura 1). A importância desta avaliação está na possibilidade de descarte de variáveis que contribuam pouco para a discriminação dos tratamentos, reduzindo, dessa forma, mão-de-obra, tempo e custos dispendidos, na experimentação agrícola (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Todas as variáveis de análise apresentaram elevado grau de correlação com o PC1 (Tabela 3), porém, para MAS, MSE e ICV foi verificado menor correlação permitindo o descarte dessas variáveis, oficializada pelos vetores tendenciosos ao PC1 em sentido horizontal (Figura 2), que revela maior interação das variáveis MSR e AP com grupo formado por *P. fluorescens* (BRM32111) e *B. pyrrocinia* (BRM32113), uma vez que quanto maiores os vetores, maior a influência da variável e, quanto mais agrupadas as variáveis e indivíduos, maior a correlação entre si (VICINI e SOUZA, 2005).

A análise de variância dos dados de MSR e AP em resposta da ação de *P. fluorescens* (BRM32111) e *B. pyrrocinia* (BRM32113) (Figura 3) inoculadas por rega, configura maiores acréscimos obtidos por *B. pyrrocinia* (BRM32113) ao acúmulo de MSR. Em pesquisas semelhantes, esta rizobactéria também beneficiou o sistema radicular em plantas de arroz, induzindo aumentos de matéria seca (ESTRADA et al., 2013; NASCENTE et al., 2017; RÊGO et al., 2018). Em plantas de grama bermuda, quando tratadas com mistura de rizobactérias, o sistema radicular também apresentou maior desenvolvimento, com maiores incrementos, tanto em matéria seca como em comprimento de raízes (COY et al., 2014).

Os mecanismos envolvidos na promoção do crescimento, induzidos por rizobactérias, ocorrem tanto pela transferência de moléculas sintetizadas pela bactéria para a planta como pelo incremento na absorção ou aumento da disponibilidade de certos elementos nutricionais, a produção de fitormônios reguladores do crescimento também faz parte do metabolismo de diversas espécies de rizobactérias (OLIVEIRA et al., 2003; GOMES et al., 2016). Rizobactérias do gênero *Burkholderia*, entre outras, são capazes de produzir ácido indolacético (AIA) e citocininas (RACHID et al., 2016). O AIA tem acentuado efeito no crescimento e desenvolvimento vegetal, podendo atuar na

divisão celular, iniciação e diferenciação das raízes (SILVEIRA; FREITAS, 2007). A produção de auxina também leva a uma maior proliferação de raízes laterais e aumento da formação de pelos radiculares, resultando em maior superfície total da raiz, favorecendo uma maior absorção de nutrientes e água pela planta (GOMES et al., 2016).

Rizobactérias também potencializam a fertilidade dos solos por meio de processos que aumentam a disponibilidade de nutrientes, através da fixação e mobilização de nitrogênio, fósforo e potássio. Para solubilizar fosfato, utilizam dois mecanismos, primeiro liberando ácidos orgânicos e afetando a mobilidade do fósforo, através de interações iônicas, e segundo por meio de fosfatases, que ajudam a desvincular os grupos de fosfato da matéria orgânica (RACHID et al., 2016). Na disponibilização de nitrogênio, microrganismos fixam o N_2 atmosférico na forma de amônia (NH_3) através do seu processo metabólico normal. Algumas bactérias tem a capacidade de infectar as raízes e induzir a formação de nódulos em plantas leguminosas, já em gramíneas podem atuar em associações endofíticas, sofrendo menos competição do que as bactérias presentes no solo, disponibilizando, parte do N diretamente para a planta (BALACHANDAR et al., 2006; RACHID et al., 2016). Para disponibilizar o potássio, os rizobactérias atuam diretamente sobre a estrutura dos minerais silicatados da fração de argila e silte do solo, por exemplo, oxidam o Fe a partir da biotita, liberando K e o Fe é utilizado como doador de elétron para seu metabolismo como fonte de energia, além disso, ocorre uma elevada produção de ácidos orgânicos quelatos de íons Si e Al, disponibilizando o potássio e liberando H^+ na solução do solo (SHERLOBOLINA et al., 2014)

No segundo ensaio desta pesquisa, utilizando o método de inoculação por rega e a rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRM32113) selecionados inicialmente, foram comparados à adubação mineral. A inoculação por *B. pyrrocinia* favoreceu acréscimos no acúmulo de MSR e AP em todos os tratamentos, exceto, quando a adubação mineral do solo utiliza fosfato de Araxá como fonte de fósforo (Figura 4). É provável que as reduções na eficiência das rizobactérias em promover crescimento em plantas adubadas com utilizando uma fonte fósforo natural (NP^nK) possam estar relacionadas ao fato de ocorrer concentrações tóxicas de alguns metais, liberadas durante a solubilização de fosfato natural, podendo afetar o desenvolvimento, a fisiologia e o metabolismo, por meio de distúrbios funcionais, desnaturando proteínas e destruindo a integridade da

membrana celular de microrganismos benéficos (SOUCHIE et al., 2005; SILVEIRA; FREITAS, 2007).

De maneira geral, os fertilizantes fosfatados, dependendo do seu material de origem, podem apresentar teores de metais, bem como resíduos ácidos, produtos de sua elaboração (VAN KAUWENBERGH, 2002). O fosfato de Araxá, em sua origem ígnea, apresenta pequeno grau de substituição do PO_4^{-3} pelo CO_3^{2-} em sua estrutura cristalina, sendo, por isto, pouco solubilizado (LEHR; McLELLAN, 1972). Avaliando teores de metais pesados em diferentes fontes fosfatadas, foram determinados teores mais elevados de cádmio em fosfatos naturais por Bizarro et al. (2008). Teores de cádmio, chumbo e cromo também foram detectados em fosfato monoamônio (GONÇALVES JR et al., 2015). Além disso, é possível que o tempo de ocorrência experimental também possa se constituir um fator de desfavorecimento a uma avaliação justa da fonte natural de fósforo em detrimento a fonte acidulada, para se obter resultados positivos, devido a sua baixa solubilidade ligada a natureza ígnea, que lhes confere alta estabilidade. Rochas de origem sedimentar e ígneas contém maiores concentrações de metais (MUNKSGAARD; LOTTERMOSER, 2011).

Ainda assim, se comparadas aos incrementos alcançados por plantas cultivadas em substrato não inoculadas, a inoculação foi positiva em plantas adubadas utilizando fontes fósforo natural, visto que, por esta análise são observados ganhos em MSR (Figura 4). Neste caso, o crescimento inicial e a atividade bacteriana podem ter sido prejudicados pelo ambiente ácido ambiente (pH 4,09), visto que, não houve calagem e foram adicionadas a solução do solo fontes de N e K pela adubação. Nessas condições, as rizobactérias passam a secretar ácidos orgânicos que favorecem a solubilização de fosfatos orgânicos, inorgânicos e micronutrientes metálicos que se tornam disponíveis em ambientes mais ácidos, permitindo a nutrição e o estabelecimento do *quorum sensing*, e garantindo o crescimento das populações bacteriana, contribuindo assim para o crescimento das plantas ao longo dos 45 dias (SILVEIRA; FREITAS, 2007)

Plantas inoculadas, cultivadas em solo calcariado e adubado com superfosfato triplo (NPK) também apresentam acréscimos no acúmulo de MSR e na AP, se comparado ao uso do fosfato natural (Figura 4), por se tratar de uma fonte acidulada e apresentar solubilidade elevada em água, razão pela qual têm alta eficiência agronômica comparativamente aos fosfatos naturais (PROCHNOW et al., 2004). O pH e os níveis de cálcio trocável ajudam a determinar quais organismos específicos prosperam em um determinado solo (BRADY; WEIL, 2013). A adição de fertilizantes nitrogenados

diminui a atividade e o desenvolvimento os microrganismos fixadores de nitrogênio, devido à pronta disponibilidade de nitrogênio para as plantas, porém, a aplicação de nitrogênio prontamente disponível estimula a comunidade de microrganismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica no solo (SILVEIRA; FREITAS, 2007).

Melhores resultados foram alcançados na ausência da adubação (Figura 4). Plantas inoculadas e cultivada em substrato, os resultados foram superiores no acúmulo de MSR e AP, aumentando inclusive, os teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), tanto em folhas como em raízes, com maiores acréscimos aos teores de nitrogênio. Lopes et al. (2018) também verificaram maior crescimento em *Brachiaria brizantha* na ausência do fertilizante. Claramente, as interações entre microrganismos e plantas são bastante complexas e difíceis de compreender, tendo como consequência respostas altamente variáveis à inoculação (RICHARDSON; SIMPSON, 2011).

Quanto às condições do meio, as rizobactérias contribuem mais efetivamente em condições pobres de nutrientes, havendo pressão seletiva sobre elas em condições de nutrição mais adequada (COSTA et al., 2013). A inoculação com rizobactérias promotoras do crescimento, também favoreceu acréscimos na concentração de nitrogênio em *Brachiaria* quando não associadas ao uso de fertilizantes (LOPES et al., 2018). O aumento no teores de N, tanto nas folhas como nas raízes (Tabela 4 e 5) pode explicar a maior massa seca de raízes, uma vez que o nutriente é conhecido por estimular o crescimento radicular (SOUTO et al., 2009, PIAZZETTA et al., 2014costa). O que também pode estar relacionado aos melhores resultados obtidos na altura das plantas e área de cobertura verde do solo (Tabela 7 e 8) como um reflexo do aumento no sistema de raízes, o que promoveu maior capacidade de absorção de água e nutrientes. Com a análise química solo ao final do experimento (Tabela 6) também verificam-se maiores acréscimos nos teores de nitrogênio com a inoculação da rizobactéria, o que pode ser explicado pela capacidade de rizobactéria em elevar a mineralização da matéria orgânica depositada no solo.

Embora os efeitos da promoção do crescimento sejam pouco evidenciados em plantas adubadas, é possível uma melhoria na qualidade do solo pela elevação dos teores de matéria orgânica em plantas inoculadas (Tabela 6) fazendo com que ocorra aumento imediato, não apenas do crescimento dos microrganismos, como também de sua atividade (BRADY; WEIL, 2013). Com a disponibilidade de nutrientes ocorre um

aumento na população microbiana, favorecendo o crescimento vegetal com acentuado aumento na produção de exsudados radiculares. Os mecanismos de indução microbiana da exsudação radicular não são bem conhecidos, mas uma das possibilidades é que os microrganismos metabolizam rapidamente o C liberado, criando um gradiente de concentração que favorecem novas exsudações (SILVEIRA; FREITAS, 2007). Em gramíneas, tanto a liberação de exsudados como entrelaçando pequenos torrões constituem agente agregador de partículas nos solos, formando estruturas maiores, contribuindo para formação e estabilidade de agregados, boa aeração e maior capacidade de infiltração de água, contribuindo também para a manutenção da matéria orgânica (BRADY; WEIL, 2013; MELO et al., 2015).

6 Conclusões

Todos os microrganismos promoveram o crescimento em grama esmeralda. A rizobactéria *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113) inoculada via rega é o mais promissor promotor de crescimento em grama esmeralda. A produção de grama esmeralda em substratos com matéria orgânica combinado a calcário ou não favorecem o crescimento de grama, dispensando inicial adubação química. A rizobactéria *B. pyrrocinia* (BRM32113) constitui-se alternativa potencial ao manejo nutricional do solo, podendo contribuir para reduções no uso dos fertilizantes químicos, visando sistemas agrícolas mais sustentáveis com níveis satisfatórios de produtividade.

Referências

- AFZAL, M.; KHAN, S.; IQBAL, S.; MIRZA, M. S.; KHAN, Q. M. Inoculation method affects colonization and activity of *Burkholderia phytofirmans* PsJN during phytoremediation of diesel-contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 85, p. 331-336, 2013.
- BACKES, C.; LIMA, C. P. de VILAS BÔAS, R. L.; FERNANDES, D. M. Resultados de pesquisas sobre a produção de grama: resistência e espessura de corte de tapetes. Simpósio sobre gramados. **Tópicos atuais em gramados II. Botucatu: FEPAF**, 2010.
- BALACHANDAR, D.; SANDHIYA, G. S.; SUGITHA, T. C. K.; KUMAR, K. Flavonoids and growth hormones influence endophytic colonization and in plant nitrogen fixation by a diazotrophic *Serratia* sp. in rice. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 22, p. 707-712, 2006.

- BERNARDO, S. Manual de irrigação. 4.ed. Viçosa, MG: UFV, 1987.488p.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 341 p. 2009.
- BIZARRO, V. G.; MEURER, E. J.; TATSCH, F. R. P. Teor de cádmio em fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil. *Ciência rural*, Santa Maria. Vol. 38, n. 1 (jan./fev. 2008), p. 247-250, 2008.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. Bookman Editora, 2013.
- BRENNECKE, K.; BERTIPAGLIA, L. M. A.; ANTONIAZZI, A.; SOUZA, E. F. Inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* no índice de crescimento da *Brachiaria decumbens* spp. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 14, p. 217-224, 2016.
- COSTA, P. B. da; BENEDUZI, A.; SOUZA, R. de; SCHOENFELD, R.; VARGAS, L. K.; PASSAGLIA, L. M. P. The effects of different fertilization conditions on bacterial plant growth promoting traits: guidelines for directed bacterial prospection and testing. *Plant and Soil*, v. 368, n. 1-2, p. 267-280, 2013.
- CARRIBEIRO, L. S. Compactação e lâminas de água do solo para a colheita de tapetes de grama. 2014. 122p. **Tese** (Doutorado em agronomia/irrigação e drenagem) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, SP, 2014.
- CHAGAS, L. F. B.; JUNIOR, A. F. C.; CASTRO, H. G. Phosphate solubilization capacity and indole acetic acid production by *Trichoderma* strains for biomass increase on basil and mint plants. **Brazilian journal of agriculture-Revista de Agricultura**, v. 92, n. 2, p. 176-185, 2017.
- COY, R. M.; HELD, D. W.; KLOPPER, J. W. Rhizobacterial inoculants increase root and shoot growth in ‘Tifway’ hybrid bermudagrass. **Journal of Environmental Horticulture**, v. 32, n. 3, p. 149-154, 2014.
- CRAVO, M. S.; VIÉGAS, I. de J. M.; BRASIL, E. C. (Ed.). Recomendações de adubação e Calagem para o Estado do Pará. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2007. p. 153-155.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 1997. 390 p.
- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.
- ESTRADA, G.; BALDANI, V.L.D; OLIVEIRA, D.M; URQUIAGA, S; BALDANI, J.I Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia strains* and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. **Plant and Soil**, v. 369, n.1-2, p. 115-129, 2013.
- ESTRADA-DE LOS SANTOS P.; BUSTILIOS-CRISTALES R.; CABALLERO-MELLADO J. *Burkholderia*, a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. **Applied and Environmental Microbiology**, 67:2790-2798, 2001.
- GONÇALVES JR, A. C.; YOSHIHARA, M. M.; DE CARVALHO, E. A.; STREY, L.; DE MORAES, A. J. Teores de nutrientes e metais pesados em plantas de estragão submetidas a diferentes fertilizações. *Revista Ciência Agronômica*, v. 46, n. 2, p. 233-240, 2015.
- GOMES, E.; SILVA, U. D. C.; PAIVA, C.; LANA, U. D. P.; MARRIEL, I.; dos SANTOS, V. L. Microrganismos promotores do crescimento de plantas. Embrapa Milho e Sorgo-Documents (INFOTECA-E) 2016.
- GUPTA, G.; PANWAR, J., AKHTAR, M. S.; JHA, P. N. Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria as Biofertilizer. In: **Sustainable Agriculture Reviews**. v. 11, Springer, Dordrecht, p. 183–221, 2012.
- GUCKERT, A.; BREISCH, H.; REISINGER, O. Electron-microscopic study on interrelation of mucigel, clay and microorganisms. **Soil Biology & Biochemistry**, 7, 241–250, 1975.
- HAIR, J.R.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados**. Bookman, Porto Alegre, 2005.
- PROCHNOW, L.I.; ALCARDE, J.C. & CHIEN SH Eficiência agronômica dos fosfatos totalmente acidulados In: Yamada T & Abdalla SRS (Eds.) Simpósio sobre fósforo na agricultura brasileira. São Paulo, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. p.605-663, 2004.
- KADO, C. I.; HESKETT, M. G. “Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*,” **Phytopathology**, vol. 60, no. 6, pp. 969–976, 1970.
- KAISER, H. F. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika**, New York, v. 23, n.3, p.187-200, 1960.

- KLAR, A. E.; VILLA NOVA, N. A.; MARCOS, Z. Z.; CERVELLINI, A. Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens. Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, v. 23, p.15-30, 1966
- LIBERATO J. R. Desenvolvimento e avaliação do software QUANT para quantificação de doenças de plantas por análises de imagens. **Tese** (Doutorado EM Fitopatologia) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003. 126 f.
- LEHR, J.R.; McCLELLAN, G.H. A revised laboratory reactivity scale for evaluating phosphate rocks for direct application. Muscle Shoals: National Fertilizer Development Center, TVA, 1972. 36p.
- LOPES, M. J. S.; FILHO, M. B. D.; CASTRO, T. H. R.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Burkholderia pyrrocinia* on the growth improvement and physiological responses in *Brachiaria brizantha*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 02, p. 250, 2018.
- PETERSON, K.; ARNOLD, K. S. BREMER, D. Custom Light Box for Digital Image Turfgrass Analysis. K- State Turfgrass Research. 2011. p. 89-91.
- PÉREZ-MONTAÑO, F.; ALÍAS-VILLEGAS, C.; BELLOGÍN, R. A.; DEL CERRO, P.; ESPUNY, M. R.; JIMÉNEZ-GUERRERO, I.; F.J. LÓPEZ-BAENA; OLLERO, F.J.; CUBO, T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. **Microbiological research**, v. 169, n. 5-6, p. 325-336, 2014.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MUNKSGAARD, N. C.; LOTTERMOSER, B. G. Fertilizer amendment of mining-impacted soils from Broken Hill, Australia: fixation or release of contaminants?. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 215, n. 1-4, p. 373-397, 2011.
- NASCENTE, A. S.; DE FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; DE SOUZA, A. C. A.; DA SILVA LOBO, V. L.; DA SILVA, G. B. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 3, p. 2956-2965, 2016.
- NASCENTE, A. S.; DE FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; DE SOUSA, T. P.; DE SOUZA, A. C. A.; DA SILVA LOBO, V. L.; DA SILVA, G. B. Effects of

- beneficial microorganisms on lowland rice development. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 32, p. 25233-25242, 2017.
- OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGAS, S.; BALDANI, J. L. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. **Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2003.
- PIAZZETTA, H.; VON, L.; MORAES, A.; RIBEIRO, T. M. D. et al. Pastejo e nitrogênio sobre o crescimento de raízes na mistura de aveia preta e azevém. *Semina*, v. 35, n. 4, p. 2749-2768, 2014.
- RASHID, M. I.; MUJAWAR, L. H.; SHAHZAD, T.; ALMEELBI, T.; ISMAIL, I. M.; OVES, M. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. *Microbiological Research*, v. 183, p. 26-41, 2016.
- RÊGO, M. C. F.; ILKIU-BORGES, F.; FILIPPI, M. C. C. D.; GONÇALVES, L. A.; SILVA, G. B. D. Morphoanatomical and biochemical changes in the roots of rice plants induced by plant growth-promoting microorganisms. **Journal of Botany**, v. 2014, 2014.
- RÊGO, M. C.; CARDOSO, A. F.; DA C FERREIRA, T.; DE FILIPPI, M. C.; BATISTA, T. F.; VIANA, R. G.; DA SILVA, G. B. The role of rhizobacteria in rice plants: growth and mitigation of toxicity. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 12, p. 60345-7, 2018.
- RICHARDSON, A. E.; SIMPSON, R. J. Soil microorganisms mediating phosphorous availability update on microbial phosphorous. *Plant Physiology*, v. 156 (3), p. 989-996, 2011.
- SANTOS JUNIOR, C.E.F. Adubação nitrogenada e calagem na produção de gramas Esmeralda e Bermuda. **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2011. 97 f.
- SHELOBOLINA, E.; RODEN, E.; BENZINE, J.; XIONG, M.Y., Using phyllosilicate-fe (ii)-oxidizingsoil bacteria to improve fe and K plant nutrition: Google Patents; 2014.
- SOUTO, J.S.; OLIVEIRA, F.T.; GOMES, M.M.S.; NASCIMENTO JP & SOUTO PC (2009) Efeito da aplicação de fósforo no desenvolvimento de plantas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L) Mill sp). *Revista Verde*, 4:135-140, 2009.

- SOUCHIE, E. L., CAMPELLO, E. F. C., SAGGIN-JÚNIOR, O. J., & DA SILVA, E. M. R. Mudanças de espécies arbóreas inoculadas com bactérias solubilizadoras de fosfato e fungos micorrízicos arbusculares. *Floresta*, v. 35, n. 2, 2005.
- SILVA, J. C.; TORRES, D. B.; LUSTOSA, D. C.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. “Rice sheath blight biocontrol and growth promotion by *Trichoderma* isolates from the Amazon,” **Revista de Ciências Agrárias**, vol. 55, pp. 243–250, 2012.
- SILVA, S. B. **Análise de solo**, Belém, PA: Universidade federal rural da Amazônia, 152p., 2003.
- Silva F (2009) Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF (Brasil)
- SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. 312 p.
- STATSOFT. Statistica 7.0. Tulsa: StatSoft. p250, 2004.
- TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Solos, 1995. 118 p. (UFRGS. Boletim Técnico, 5.
- VAN KAUWENBERGH, S. J. Cadmium Content of Phosphate Rocks and Fertilizers. IFA Technical Conference, Chennai: IFA, 2002. p.32.
- VICINI, L.; SOUZA, A. M. **Análise multivariada da teoria à prática**. Santa Maria: UFSM, CCNE, 2005.