



**LEANDRO ISRAEL DA SILVA**

**CONSÓRCIO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE  
CRESCIMENTO NA CULTURA DO MORANGUEIRO**

**LAVRAS – MG**

**2022**

**LEANDRO ISRAEL DA SILVA**

**CONSÓRCIO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA CULTURA  
DO MORANGUEIRO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Microbiologia Agrícola, área de  
concentração em Biotecnologia  
de microrganismos aplicada à  
agropecuária e ao meio ambiente,  
para a obtenção do título de  
Mestre.

Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues  
(Orientadora)

**LAVRAS – MG**

**2022**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da  
Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

da Silva, Leandro Israel.

Consórcio de bactérias promotoras de crescimento na cultura do  
morangueiro/ Leandro Israel da Silva. - 2022.

89 p.: il.

Orientador(a): Joyce Dória Rodrigues

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Microbiologia Agrícola. 2. Agricultura Sustentável. 3.  
Consórcio Microbiano. I. Dória, Joyce. II. Título.

**LEANDRO ISRAEL DA SILVA**

**CONSÓRCIO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA CULTURA  
DO MORANGUEIRO**

**CONSORTIUM OF GROWTH PROMOTING BACTERIA IN STRAWBERRY  
CULTURE**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Microbiologia Agrícola, área de  
concentração em Biotecnologia  
de microrganismos aplicada à  
agropecuária e ao meio ambiente,  
para a obtenção do título de  
Mestre.

APROVADA em 17 de fevereiro de 2022.

Dra. Angélica Cristina de Souza – UFLA  
Dr. Marlon Correa Pereira - UFV

Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues  
(Orientadora)

**LAVRAS – MG**

**2022**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela oportunidade de estar concluindo mais está etapa da minha jornada, por todas as forças que me deu para continuar caminhando mesmo em dias tão difíceis.

Aos meus pais Darci Israel da Silva e Maria de Lurdes Israel da Silva por todo esforço para me ver concluindo meus sonhos e por sempre acreditarem na minha capacidade.

À minha namorada Letícia da Silva Sousa, pela paciência e pareceria em todos os dias que me motivou a ser forte, ao mesmo tempo que estivemos afastados estávamos cada vez mais próximos.

À minha orientadora Joyce Dória, pela liberdade e paciência, e por estar sempre presente auxiliando nas escolhas e guiando para completar este trabalho.

A todos os técnicos e companheiros de laboratório que colaboraram, pelas conversas, instruções e almoços reclusos que tivemos neste tempo de pandemia.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) por ter dado o apoio institucional para a realização desta pós graduação.

Ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola por ter me hospedado e dado condições teóricas e estruturais indispensáveis para a realização das minhas atividades.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

As bactérias são microrganismos capazes de proporcionar o desenvolvimento de vegetais a partir da disponibilização de nutrientes e metabólitos, sendo importantes para a agricultura sustentável. A cultura do morango ocupa no Brasil uma área superior a 4300 hectares, e esta produção demanda da utilização de uma grande quantidade de insumos químicos. O objetivo deste estudo é avaliar a capacidade de promoção de crescimento de bactérias selecionadas, e após as inocular em diferentes combinações em mudas de morango avaliando seus efeitos benéficos. Também é pretendido analisar a contribuição das bactérias para a redução do requerimento total de adubação no morangueiro. Os microrganismos utilizados neste estudo foram *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium* e *Brevibacillus* sp. Foram realizados testes *in vitro* para evidenciar o fornecimento de nutrientes (N, P, K e Ca), sideróforos e ácido indol- acético (IAA). O experimento foi realizado em casa de vegetação em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com a inoculação das bactérias em mudas de morango de forma isolada, em pares e tripla, onde também foi feita a adubação com 30% de N e P. Os controles foram plantas não inoculadas adubadas com 100% e 30% da demanda de N e P. Ao final do experimento (138 dias) foram realizadas pesagens e medidas a respeito do comprimento, matéria fresca e seca das raízes, parte aérea e do total das mudas. Foi visto que os microrganismos apresentaram resultados positivos em todos os aspectos analisados para a disponibilização de nutrientes e síntese de IAA, entretanto não foi constatada a produção de sideróforos. Os resultados apontaram que os morangueiros responderam de maneira positiva à inoculação. De modo geral, a maioria dos tratamentos obteve rendimentos superiores ao controle adubado à 30% sem inoculação e semelhantes ao controle não inoculado com 100% de adubação. Foi visto que os inóculos proporcionaram o desenvolvimento da coroa, crescimento radicular e acúmulo da biomassa. Desta maneira, o intermédio dos microrganismos permite a redução na demanda da adubação para o morangueiro em até 70% do total, pois sua utilização conduz o desenvolvimento da planta em rendimentos equiparáveis a adubação completa.

**Palavras-chave:** Agricultura Sustentável. Consórcio Microbiano. Screening Metabólico. Interação Planta x Microrganismo.

## ABSTRACT

Bacteria are microorganisms capable of providing the development of vegetables from the availability of nutrients and metabolites, being important for sustainable agriculture. Strawberry cultivation occupies an area of more than 4300 hectares in Brazil, and this production demands the use of a large amount of chemical inputs. The objective of this study is to evaluate the growth promotion capacity of selected bacteria, and after inoculating them in different combinations in strawberry seedlings, evaluating their beneficial effects. It is also intended to analyze the contribution of bacteria to the reduction of the total fertilizer requirement in the strawberry. The microorganisms used in this study were *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium* and *Brevibacillus* sp. In vitro tests were carried out to evidence the supply of nutrients (N, P, K and Ca), siderophores and indole acetic acid (IAA). The experiment was carried out in a greenhouse in a completely randomized design (CRD), with the inoculation of bacteria in strawberry seedlings in isolation, in pairs and in triples, where fertilization with 30% of N and P was also carried out. controls were non-inoculated plants fertilized with 100% and 30% of N and P demand. At the end of the experiment (138 days) weights and measurements were carried out regarding the length, fresh and dry matter of the roots, shoots and the total of the seedlings. It was seen that the microorganisms showed positive results in all aspects analyzed for the availability of nutrients and synthesis of IAA, however the production of siderophores was not observed. The results showed that the strawberry plants responded positively to inoculation. In general, most treatments obtained higher yields than the control fertilized at 30% without inoculation and similar to the control without inoculation with 100% fertilization. It was seen that the inoculum provided the crown development, root growth and biomass accumulation. In this way, the intermediary of microorganisms allows a reduction in fertilizer demand for the strawberry by up to 70% of the total, as its use leads to the development of the plant in yields comparable to complete fertilization.

**Key-words:** Sustainable Agriculture. Microbial Consortium. Metabolic Screening. Plant x Microorganism Interaction.

## SUMÁRIO

	<b>PARTE 1</b> .....	
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO E VISÃO GERAL DO ESTUDO</b> .....	<b>9</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1</b>	<b>O Solo como habitat e Microrganismos Promotores do Desenvolvimento Vegetal</b> .....	<b>11</b>
<b>2.2</b>	<b>Mecanismos de Promoção de Crescimento</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Fixação Biológica de Nitrogênio</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Solubilização de Fosfato</b> .....	<b>19</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Síntese de Auxinas</b> .....	<b>22</b>
<b>2.3</b>	<b>Aplicações de microrganismos promotores de crescimento em culturas agrícolas gerais.</b> .....	<b>24</b>
<b>2.4</b>	<b>Aplicações de microrganismos promotores de crescimento em morangos</b> .....	<b>27</b>
<b>2.5</b>	<b>A História do Morangueiro</b> .....	<b>30</b>
<b>2.6</b>	<b>Aspectos Botânicos do Morangueiro</b> .....	<b>32</b>
<b>2.7</b>	<b>Composição e Características Nutricionais do Morango</b> .....	<b>34</b>
<b>2.8</b>	<b>Produção e Comercialização do Morango</b> .....	<b>36</b>
<b>2.9</b>	<b>Sustentabilidade Agrícola</b> .....	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>Considerações Finais</b> .....	<b>44</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>45</b>
	<b>PARTE 2: ARTIGO</b> .....	<b>59</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>60</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>61</b>
<b>2.1</b>	<b>Condições de cultivo dos isolados e padronização dos inóculos</b> .....	<b>61</b>
<b>2.2</b>	<b>Avaliação da interação entre as colônias</b> .....	<b>62</b>
<b>2.3</b>	<b>Perfil metabólico das bactérias promotoras de crescimento</b> .....	<b>62</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Fixação biológica de nitrogênio</b> .....	<b>62</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Solubilização de fosfato e cálcio</b> .....	<b>63</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Solubilização de Potássio</b> .....	<b>63</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Produção de Sideróforos</b> .....	<b>64</b>
<b>2.3.5</b>	<b>Alteração do pH</b> .....	<b>64</b>
<b>2.3.6</b>	<b>Síntese de Ácido Indol Acético (IAA)</b> .....	<b>65</b>
<b>2.4</b>	<b>Inoculação microbiana e delineamento experimental</b> .....	<b>65</b>

2.5	Avaliação dos caracteres morfológicos das plantas .....	67
2.6	Delineamento experimental.....	68
3	<b>RESULTADOS</b> .....	68
3.1	Interação entre as colônias .....	68
3.2	Screening Metabólico.....	69
3.3	Mensuração do Diâmetro da Coroa .....	70
3.4	Número de folhas e área foliar .....	73
3.5	Comprimento da Raiz.....	74
3.6	Peso fresco e seco.....	75
3.6.1	Parte Aérea .....	75
3.6.2	Raiz.....	77
3.6.3	Peso Total.....	77
3.7	Morfologia do Crescimento das Mudas .....	78
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	79
4.1	Aspectos promotores de crescimento dos microrganismos .....	79
4.2	Avaliação da Promoção de Crescimento.....	81
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	84
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	84

## PARTE 1

### 1. INTRODUÇÃO E VISÃO GERAL DO ESTUDO

As bactérias são microrganismos essenciais para os sistemas biológicos (COELHO et al., 2007), e muitas vezes são relatadas como promotoras de crescimento em plantas (BPCPs) (GOMES et al., 2016). Elas possuem diversos mecanismos de ação diretos e indiretos que favorecem o crescimento da planta, entre eles: a fixação biológica de nitrogênio (FRANCHE et al., 2009), solubilização de fósforo, cálcio e potássio (BILLAH et al., 2019), produção de auxinas e outros fitohormônios (ASGHAR et al., 2002), produção de sideróforos (ALEXANDER e ZUBERER, 1991), síntese de antibióticos e metabólitos secundários (TYC et al., 2017), a tolerância a estresses ambientais como a seca (MARULANDA et al., 2009) e baixa fertilidade do solo (ZAHEER et al., 2016).

A interação mutualística entre plantas e microrganismos representa uma alternativa ecologicamente viável que concilia a produção agrícola e sustentabilidade ambiental, reduzindo a dependência à insumos químicos (CHANDRAN et al., 2021). Isto tem sido muito explorado na agricultura como um recurso biotecnológico na produção de bioinoculantes (MENDES et al., 2013; GOMES et al., 2016), que por definição são produtos formulados a partir de microrganismos vivos e que tem propriedades biofertilizantes e biopesticidas (VESSEY, 2003; FUENTES-RAMIREZ e CABALLERO-MELLADO, 2005; EL-YAZEID et al., 2007).

Os mecanismos de ação dos bioinoculantes podem variar dependendo da combinação ou estirpe dos microrganismos que o compõe, desta forma expressando resultados significativos em tratamentos de co-cultivos e consórcios (KNOTH et al., 2013; ZAYADAN et al., 2014; ROTARU, 2018; ARORA et al., 2020). Os inoculantes microbianos podem ser aplicados em sementes, solo ou na superfície foliar, subsequentemente ocorre a colonização dos tecidos vegetais e a proliferação das células, as quais beneficiam o desenvolvimento vegetal (MOHAMMADI e SOHRABI, 2012).

O morangueiro (*Fragaria x ananassa*, Duch.) é uma cultura de frutas vermelhas pertencente à família de plantas Rosaceae, se enquadra no gênero *Fragaria* L., sendo um híbrido resultante do cruzamento das espécies nativas *Fragaria chiloensis* Mill e *Fragaria virginiana* Duch. (KALKMAN, 1993; ANTUNES et al., 2016; SHARMA et al., 2019b). Devido às suas características nutracêuticas e organolépticas, o pseudofruto

do morango apresenta características que o tornam inconfundível (TACO, 2011), as quais também contribuem para seu consumo seja *in natura* ou como ingrediente em receitas de doces e laticínios (CASTRICI et al., 2017).

Além disso o morango é uma espécie cultivada globalmente. A soma da área mundial beneficiada com a cultura equivale a aproximadamente 372 mil hectares, de onde foram colhidas mais de 8 milhões de toneladas segundo dados recentes (FAOSTAT, 2018). Dos países produtores a China destaca-se como líder da produção, seguida pelos Estados Unidos e México (FAOSTAT, 2018a). Já em relação a produtividade nacional é evidenciado que no Brasil a produção ultrapassou 165 mil toneladas (ANTUNES et al., 2021), sendo os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul os maiores contribuintes (FAGHERAZZI et al, 2017).

A prática da agricultura orgânica enfatiza o manejo da cultura mediada a partir de processos naturais (MÉRIDA, 2020). Estes processos podem ser interpretados como relações ecológicas que acontecem constantemente entre as plantas e o solo, sobretudo daqueles sob a influência da rizosfera, uma região onde os exsudados radiculares beneficiam nas dinâmicas das comunidades de microrganismos, proporcionando um *hotspot* para sua diversidade. (BOWEN e ROVIRA, 1999; BAKKER et al. 2013). A microbiota deste ambiente rizosférico tem uma grande afinidade em interagir de forma benéfica com as plantas, condicionando seu metabolismo e auxiliando na obtenção e nutrientes exercendo comportamentos simbióticos, sejam endofíticos ou em vida livre (KASCHUK e HUNGRIA, 2017; AFZAL et al., 2019).

Sendo assim, é evidente como os microrganismos podem favorecer uma produção agrícola mais sustentável e ambientalmente favorável. Novas estratégias e tecnologias de inoculantes estão sendo constantemente fomentadas a partir do refinamento de processos laboratoriais e da identificação e melhoramento de estirpes, e dessa forma, contribuindo como uma alternativa viável para o futuro da agricultura mundial (QIU et al., 2019; VASSIELEVA et al., 2021).

O objetivo principal do trabalho consiste em analisar as características metabólicas de microrganismos selecionados relacionadas a promoção de crescimento como a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e síntese de auxinas, associando sua efetividade quando inoculados singularmente e em co-cultivo sob o morangueiro.

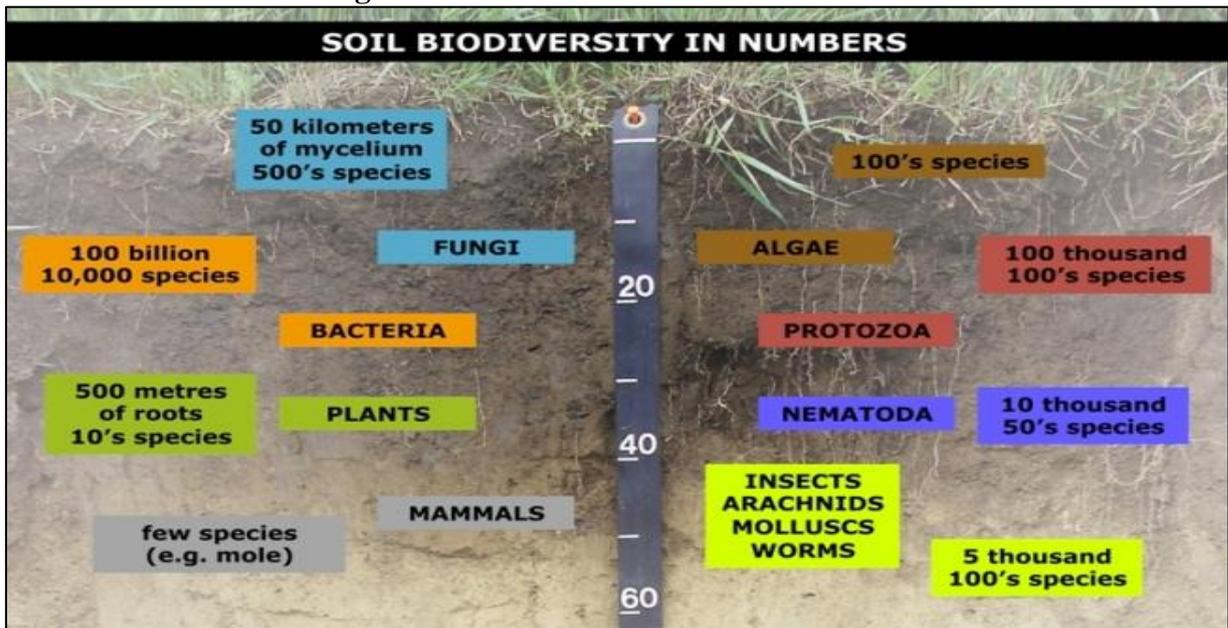
## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O Solo como habitat e Microrganismos Promotores do Desenvolvimento Vegetal

Os solos são sistemas complexos e fundamentais para a vida. Nele funções suporte para a vida são exercidas como o fornecimento de superfícies férteis (base para a agricultura e economia), proteção contra a erosão, proteção de corpos hídricos potáveis e manutenção da biodiversidade (SCHLOTTER et al, 2018). Em definição o solo é um sistema dinâmico e biológico, é constituído de agregados estruturados em diferentes granulometrias que junto a matéria orgânica e água representam um suporte físico para o desenvolvimento da biota (CARDOSO e ANDREOTE, 2016). Ele é organizado de maneira heterogênea e descontínua e isto faz com que ocorram gradientes na disponibilidade de nutrientes e conseqüentemente *hotspots* para a diversidade microbiana (BOWEN e ROVIRA, 1999; BAKKER et al. 2013).

Os microrganismos do solo compõem um grupo amplamente diverso e abundante. É reportado que em 1g de solo possa conter 1 bilhão de células bacterianas distribuídas em 10 mil espécies (ROESCH et al., 2007; WAGG et al. 2014). De maneira fundamental, a microbiota do solo desempenha papéis chave à manutenção dos ecossistemas como ciclagem de nutrientes, redução de patógenos e a manutenção e estruturação do solo (FILIP, 2002; KURAMAE et al, 2012). A figura 1 apresenta a distribuição da biota no solo em números.

**Figura 1:** Diversidade do Solo em Números



**Fonte:** EUROPEAN SOIL DATA CENTRE (ESDAC). Disponível em: [https://esdac.jrc.ec.europa.eu/themes/soil-biodiversity#tabs-0-resources\\_by\\_type=0](https://esdac.jrc.ec.europa.eu/themes/soil-biodiversity#tabs-0-resources_by_type=0).

De acordo com Kuramae e colaboradores (2012) as características do solo são mais fortemente influenciadas pela biota (em maior significância os microrganismos) do que pelo próprio manejo. Parâmetros como o balanço entre carbono e nitrogênio, pH e concentração de fósforo são os fatores que mais influenciam para a composição da microbiota, os quais independem da cobertura vegetal e das práticas de uso do solo. Desta maneira, os pesquisadores constatarem uma dupla abordagem para compreender primeiramente as condições que dirigem a comunidade microbiana do solo, e posteriormente, como a incidência de grupos bacterianos específicos podem indicar a sua qualidade.

Como dito anteriormente, o solo é um sistema complexo e nele acontecem diversas interações ecológicas. A porção com maior incidência dessas dinâmicas é conhecida como rizosfera (PHILIPPOT et al., 2013; BALESTRINI et al., 2015). Este termo foi proposto por Lorentz Hiltner em 1904 para classificar os *hotspots* de diversidade microbiana sob influência dos exsudados radiculares, além disso, esta região é fundamental para compreensão das relações sinérgicas e patogênicas entre plantas e microrganismos (KOO et al., 2005). Rasmann e Turlings (2016) demonstraram que a natureza química destes exsudados é capaz de recrutar diferentes grupos de microrganismos, entre eles fungos micorrízicos arbusculares (atraídos por estrictolactonas) e bactérias noduladoras (atraídas por ácidos hidroxiamínicos).

Berendsen et al., (2012) constataram a existência de cerca de cem bilhões de células microbianas associadas por grama de raiz. Segundo os autores, esta correlação íntima

caracteriza o microbioma do vegetal (conjunto de microrganismos, seus recursos genéticos e moleculares associados às plantas). Desta forma, as interações e compatibilização de funções no complexo planta x microrganismo, conseqüentemente resulta no estabelecimento de um superorganismo, já que o mutualismo exercido se torna em grande parte fundamental para a sobrevivência de ambos (MENDES et al., 2011).

A microbiota do ambiente rizosférico interage de forma benéfica com as plantas, exercendo comportamentos simbióticos, endofíticos, associativos e em vida livre (KASCHUK e HUNGRIA, 2017; AFZAL et al., 2019). Desta maneira, elas condicionam a modulação do metabolismo vegetal enquanto auxiliam na mobilização de nutrientes. As bactérias são microrganismos excepcionais em fomentar o desenvolvimento vegetal (COELHO et al., 2007), e muitas vezes são relatadas como bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCPs) (GOMES et al., 2016).

Segundo Glick (2018) a interação entre plantas e bactérias tem origem de 80 a 100 milhões de anos atrás. As bactérias possuem diversos mecanismos de ação promovendo a fixação biológica de nitrogênio (FRANCHE et al., 2009), solubilização de fosfato (BILLAH et al., 2019), produção de auxinas e outros fitohormônios (ASGHAR et al., 2002), produção de sideróforos (ALEXANDER e ZUBERER, 1991), síntese de antibióticos e metabólitos secundários (TYC et al., 2017), a tolerância a estresses ambientais, como a seca (MARULANDA et al., 2009) e baixa fertilidade do solo (ZAHEER et al., 2016).

Bender et al., (2016), propuseram que a engenharia da biodiversidade do solo seria um caminho para uma agricultura mais sustentável no futuro. Neste trabalho, os autores indicam que mesmo que grande parte da microbiota do solo tenha funções ecológicas redundantes, ao final a composição das espécies em um ambiente é relativa à sua estabilidade e também pela melhoria dos processos naturais que regem sua qualidade. Também é indicado pelos autores que a engenharia da comunidade de microrganismos do solo pode proporcionar a regeneração de sistemas agrícolas degradados. A biodiversidade do solo é algo muito importante pois a heterogeneidade dos microrganismos possibilita uma maior cobertura perante a variações ambientais imprevistas, dessa forma a resiliência de certos microrganismos pode assegurar a resistência e sustentabilidade do ambiente como um todo (LUKAC, 2017; BARDGETT e CARUSO, 2020).

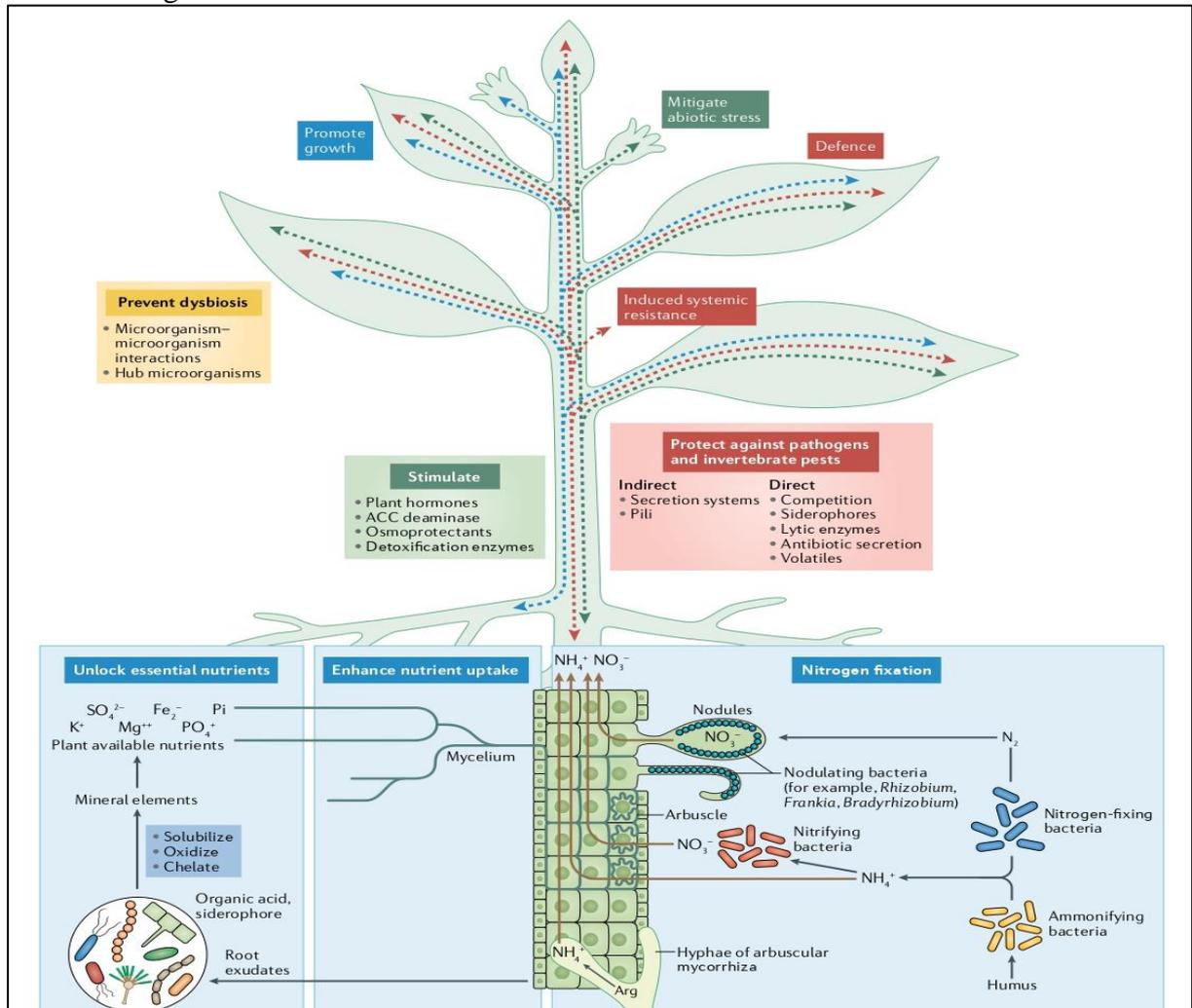
Raklami et al. (2019) demonstraram a aplicabilidade dos microrganismos na promoção de crescimento em feijão-fava (*Vicia faba*) e trigo (*Triticum durum*). No experimento conduzido, os efeitos da inoculação de BCPs (*Acinetobacter* sp e *Rahnella aquatilis*), rizobactérias (*Ensifer meliloti*, duas estirpes) e fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus* sp., *Sclerocystis* sp. e *Acaulospora* sp.) foram testados em campo, onde a inoculação tripla desses três grupos apresentou os melhores resultados. Parâmetros de crescimento foram incrementados em grandes proporções. Para o feijão-fava observou-se o aumento no número de ramos (130%), da matéria seca da raiz (200%) e no número de folhas (78%). No trigo foi constatado o incremento no número de ramos (293%), na matéria seca da raiz (258%) e na quantidade de folhas em (87%). A análise mineral também evidenciou o incremento de elementos como N, Ca, P, Na e K nos tecidos vegetais.

O caráter mutualístico entre plantas e microrganismos representa uma alternativa ecologicamente viável que concilia a produção agrícola e sustentabilidade ambiental. Isto tem sido muito explorado na agricultura como um recurso biotecnológico na produção de bioinoculantes (MENDES et al., 2013; GOMES et al., 2016), que por definição são produtos formulados a partir de microrganismos vivos e que tem propriedades biofertilizantes e biopesticidas (VESSEY, 2003; FUENTES-RAMIREZ e CABALLERO-MELLADO, 2005; EL-YAZEID et al., 2007), e que por natureza possibilitem a impulsão do rendimento agrícola.

## 2.2 Mecanismos de Promoção de Crescimento

Os microrganismos são seres ubiqüitários vivendo nos mais diversos ambientes. Eles são dotados de diferentes metabolismos que os permitem explorar de forma mais efetiva os nutrientes presentes em um meio utilizando destes para potencializar seu *fitnes* (TRIVEDI et al., 2020). A atividade fisiológica das bactérias promotoras de crescimento possibilita o desenvolvimento vegetal quando associadas com plantas e isto pode acontecer de maneira direta ou indireta (KUDAN et al., 2015; OLANRENWAJU et al., 2017). A **Fig. 1** apresenta esses mecanismos e como diferentes microrganismos interagem com plantas proporcionando seu desenvolvimento.

**Figura 2:** Mecanismos Promotores de Crescimento diretos e indiretos de microrganismos em vegetais.



**Fonte:** TRIVEDI et al. 2020

Os mecanismos diretos são aqueles em que os microrganismos influenciam diretamente no crescimento vegetal. Desta maneira auxiliam na síntese ou disponibilização de nutrientes ou biomoléculas fundamentais para eles (OLANREWAJU et al., 2017).

Os mecanismos indiretos para promoção de crescimento são aqueles beneficiam a planta pelo resultado de algum mecanismo bacteriano não correlato a sua associação imediata. Isso resulta na diminuição de fatores deletérios ao crescimento vegetal. A inibição de crescimento de agentes patogênicos por parte das bactérias, seja por competição, ou pela produção de moléculas antibióticas é um exemplo destes mecanismos. Posteriormente o crescimento vegetal é beneficiado ao decorrer da ausência dessas adversidades (KUNDAN et al, 2015)

A seguir serão abordados os mecanismos de fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, síntese de auxinas como parte da promoção direta de crescimento vegetal.

### 2.2.1 Fixação Biológica de Nitrogênio

O nitrogênio (N) é um nutriente fundamental descrito pela primeira vez por Daniel Rutherford em 1772. É amplamente encontrado na atmosfera, onde representa cerca de 78% do total dos gases que a compõem, e em escala é o sexto mais abundante no planeta (SANDERSON, 2019). Não só isso, ele é componente de moléculas como ácidos nucleicos, proteínas e polissacarídeos, e sua significância pode ser ainda mais acentuada quanto a sua presença nos seres vivos onde representa em média 16% do peso relativo de todos complexos orgânicos biológicos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; SANDERSON, 2019).

Para as plantas o nitrogênio é um macronutriente indispensável para o desenvolvimento (MURATORE et al., 2021). Ele é componente do anel tetrapirrólico constituinte das clorofilas, suas concentrações ótimas aumentam a produção e durabilidade foliar consequentemente otimizando o processo fotossintético, sua presença beneficia a absorção de outros nutrientes como fósforo e potássio e a qualidade final dos frutos é mediada também pela abundância deste (AHMAD et al., 2009; BLOOM, 2015). Em contrapartida, a deficiência de nitrogênio acarreta a diminuição da vitalidade das folhas por clorose, os botões florais podem se tornar insustentáveis e também pode ocorrer a redução da biomassa vegetal devido a insuficiência fotossintética (LEGHARI et al., 2016; HUANG et al., 2020).

Contudo, mesmo com a imensa abundância na atmosfera o  $N_2$  (Dinitrogênio) é indisponível para a utilização nos organismos. Isto acontece devido a sua extrema estabilidade química proporcionada pela ligação tripla entre as moléculas ( $N \equiv N$ ). O rompimento desta ligação requer um extremo gasto energético e térmico, sendo que uma das formas de sua separação na natureza se dá a partir da incidência de raios, os quais convertem o vapor de água e oxigênio em radicais reativos livres de hidrogênio que conseguem atacar o  $N_2$  formando ácido nítrico ( $HNO_3$ ), subsequentemente cai na terra junto a chuvas e se dissocia em nitrato ( $NO_3^-$ ) se integrando no ciclo biogeoquímico do elemento podendo ser assimilado pelas plantas (BLOOM, 2015). Mesmo assim, esse é um processo com ocorrência totalmente aleatória e o seu rendimento não pode ser explorado diretamente e comercialmente. Estimativas indicam que apenas 2% do nitrogênio é fixado desta maneira (PATIL et al., 2017).

Outra forma de se obter formas assimiláveis de nitrogênio é a partir de processos industriais que utilizam de métodos químicos para proporcionar sua síntese. O método mais explorado é o de Haber-Bosch difundido comercialmente a partir de 1913 e atualmente responsável por cerca de 29% do nitrogênio fixado globalmente (PATIL et al., 2017). Basicamente ele consiste em recriar as condições naturais para a fixação do nitrogênio, para isso em reator são utilizados um catalizador de ferro, temperatura de cerca de 500°C, e pressão de 150 a 200 atm para possibilitar o rompimento da tripla ligação do  $N_2$  e sua associação com moléculas de hidrogênio ( $H_2$ ), resultando na síntese de amônia ( $NH_3$ ), a qual pode ser utilizada para a formulação de fertilizantes (PATIL et al., 2017; MODAK, 2002).

Como visto as condições necessárias para atender o processo de fixação de nitrogênio são extremas e específicas. De acordo com Fúnez Guerra e colaboradores (2020) o processo industrial em si requer altos gastos com equipamentos, tanques de armazenamento e trabalho civil, além de incluir custos com eletricidade, água e manutenção. Soloveichik (2019) adicionalmente ressalta os danos ambientais causados como a alta demanda de combustíveis fósseis para sintetizar o hidrogênio utilizado na reação, resultando na emissão de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) na atmosfera, o qual contribui para agravar o efeito estufa.

Além disso, a dependência e aplicação de fertilizantes nitrogenados pode acarretar danos severos aos solos existindo um impasse na rentabilidade e utilização destes fertilizantes em campo. Segundo Kant e Rothstain (2010), as formas constituintes básicas destes produtos, amônia e nitrato, são muito móveis no solo de modo que as plantas conseguem utilizar apenas 40% do total aplicado, sendo assim os outros 60% são imobilizados, lixiviados ou consumidos por microrganismos. Outra grande problemática causada pelo uso excessivo dos fertilizantes é a combinação da lixiviação do nutriente e seu consumo por microrganismos resultando no processo de eutrofização dos solos e corpos hídricos, assim ocorre o crescimento desordenado de algas fotossintéticas (cianobactérias), acarretando no aumento da demanda biológica de oxigênio o que origina zonas mortas para outros seres vivos (ACZEL, 2019).

Sendo assim, a maneira mais proveitosa para a síntese de nitrogênio é mediada justamente por microrganismos, no processo conhecido como fixação biológica de nitrogênio. Este processo é um recurso fundamental para o ciclo do nitrogênio totalizando cerca de 64% do total de nitrogênio fixado globalmente, onde nesta

proporção 24% ocorrem em áreas florestais, 10 % em áreas agrícolas, e 30% nos oceanos (PATIL et al., 2017).

A fixação biológica de nitrogênio ocorre exclusivamente por intermédio de procariotos. A reação anaeróbica tem o  $N_2$  como substrato e se inicia com sua ligação no complexo catalítico da enzima nitrogenase, que a partir de proteínas metálicas, realizam a redução do nitrogênio gasoso, possibilitando a hidrólise de sua tripla ligação e sua conversão para a produção da amônia ( $NH_3$ ). Para tanto 16 moléculas de ATP são consumidas o que faz com que seja um processo com grande requerimento energético (MARINO e HOWARTH, 2009; KRONECK e TORRES, 2014; VICENTE e DEAN, 2017).

A amônia resultante desse processo se torna disponível no solo e se torna um substrato passível para a utilização por outras classes de microrganismos. Um exemplo é o processo de nitrificação com a conversão de  $NH_3$  a nitrito ( $NO_2^-$ ) e após a nitrato ( $NO_3^-$ ) sendo estas duas formas assimiláveis pelas plantas. Existem também microrganismos denitrificadores que catalisam o  $NO_3^-$  em uma reação que origina o  $N_2$  dispersado novamente a atmosfera (SCHULTEN e SCHNITZER, 1997).

Os microrganismos fixadores de nitrogênio são denominados de diazotróficos. Este grupo contém procariotos que podem estar em vida livre ou associados a tecidos vegetais podendo ser tanto bactérias quanto arqueias (CHURCH e BÖTTJER, 2013). Segundo Gruber e Galloway (2008), a importância dos diazotróficos pode ser ressaltada em números quando se tem uma taxa de assimilação global equivalente a 110 teragramas de N por ano em solos, e de 140 teragramas de N nos ambientes marinhos. A notabilidade do ciclo do nitrogênio se faz tão presente para a humanidade que de acordo com Pappu et al. (2017) a academia de engenheiros identificou o seu gerenciamento como um dos 14 desafios predominantes para o futuro.

A diversidade dos diazotróficos também é algo muito relevante. Gupta e colaboradores (2019) identificaram os taxa presentes em diferentes órgãos vegetais a partir do sequenciamento do gene *NifH* (precursor da nitrogenase) de amostras de gramas perenes em solos agrícolas da região Mediterrânea. Foram constatados representantes dos gêneros *Clostridium*, *Methylobacterium*, *Paenibacillus*, *Dechloromonas*, *Gluconacetobacter*, *Azospirillum*, *Pelobacter*, *Novosphingobium*, *Polaromonas*, *Leptothrix*, *Diplosphaera*, *Geobacter*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Methylocella* e *Hyphomicrobium*.

A fixação biológica de nitrogênio tem sido um processo agrícola ecologicamente viável em contraste aos desafios e prospecções futuras para o desenvolvimento sustentável. Skonieski et al. (2017) conduziram um trabalho com a inoculação de *Azospirillum brasilense* em culturas

de milho, para isso o experimento foi conduzido entre as safras de 2012/2013 e 2013/2014, onde plantas foram inoculadas ou não com as estirpes Ab-v5 e Ab-v6 e adicionalmente foram adubadas com diferentes concentrações de nitrogênio. As adubações nitrogenadas de 0, 60 e 120 kg ha<sup>-1</sup> beneficiaram as plantas inoculadas, sendo que as análises estatísticas revelaram que a taxa de nitrogênio variou entre 0 e 184 kg ha<sup>-1</sup> aumentando a produtividade das plantas. Houve também a constatação de que *A. brasilense* possibilitou o aumento do extrato foliar e dos nutrientes totais digeríveis.

### 2.2.2 Solubilização de Fosfato

O Fósforo (P) é um elemento igualmente fundamental para os seres vivos. Descoberto em 1669 por Henning Brant é o 12º elemento mais abundante na crosta da Terra sendo sempre encontrado na forma de íon fosfato associado a diferentes minerais, os quais constituem reservas sedimentares ao longo do planeta. O fósforo é responsável pelo armazenamento de energia na molécula de ATP, e também é um componente estrutural da membrana celular (ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA, 2019).

Nas plantas o fósforo é o macronutriente mais importante para o desenvolvimento vegetal, ultrapassando nutrientes como cálcio e potássio. Auxilia na obtenção de outros nutrientes como o próprio nitrogênio, sendo assim considerado um fator limitante. Em geral o fósforo é responsável pelo vigor da planta, onde é constituinte de açúcares, ácidos nucleicos e lipídeos. No metabolismo é um mediador da síntese de carboidratos e atua na ativação e inativação de enzimas. No desenvolvimento vegetal estimula a germinação, o crescimento das raízes, na perfeita floração e formação das sementes (DAY e LUDEKE, 1993; MALHOTRA et al., 2018). Todavia, a carência do macronutriente acarreta a diminuição do crescimento do vegetal. Os primeiros sintomas são observados como a proliferação de clorose foliar (coloração amarelada) e em alguns casos evolução para necrose foliar (BERGMAN, 1992; COELHO et al., 2012).

No ambiente, o fósforo é proveniente de fontes orgânicas e inorgânicas, entretanto a maior fração deste se encontra indisponível a utilização das plantas. Segundo Holford (1997) cerca de 80% do P do solo encontra em estado imóvel devido a processos de precipitação, adsorção ou conversão a forma orgânica. O fósforo é assimilável pelas plantas em forma inorgânica (Pi) que de acordo com o pH existe em diferentes conformações, entre elas o ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), fosfato de dihidrogênio

( $\text{H}_2\text{PO}_4$ ) e hidrogenofosfato ( $\text{HPO}_4$ ) (SCHACHTMAN et al, 1998). De acordo com Bieleski (1973) apenas uma fração que não excede de 10  $\mu\text{m}$  de Pi encontra-se imediatamente disponível na solução do solo, e segundo Ch'ng (2014) em solos ácidos o fósforo é imobilizado por alumínio e ferro, além disso a própria matéria orgânica influencia a disponibilidade do nutriente (SMITHSON, 1999).

Para contornar este impasse, muitas vezes são utilizados fertilizantes fosfatados, confeccionados a partir de rochas sedimentares que contém em seu volume total uma razão de 5 a 50% de fosfato em formas variáveis, uma delas o pentóxido de fosfato  $\text{P}_2\text{O}_5$ . A produção destes ocorre com o tratamento da rocha (apatita) em reator contendo ácido sulfúrico e após séries de reações para clarificar e garantir a pureza final do produto que apresenta em sua composição ácido fosfórico, amônia entre outros nutrientes (SIMS et al., 2005; IVELL, 2012). De acordo com Ptáček (2016) esse tipo de rocha é responsável por cerca de 80% dos fertilizantes a base de fosfato produzidos atualmente.

Entretanto, a utilização de rochas fosfatadas é uma atividade insustentável para o meio ambiente visto que primeiramente este nutriente não é renovável, carecendo constantemente de explorações dos depósitos sedimentares ao longo do planeta (PTÁČEK, 2016; BINDRABAN et al, 2020). Também como dito anteriormente o nutriente é muito móvel no solo o que propicia muitas perdas produtivas em cultura, e na mesma medida contribui para a eutrofização de corpos hídricos (SHARPLEY, 1995). A situação se agrava ainda mais de acordo com as perspectivas futuras para a aplicação de fertilizantes fosfatado. De acordo com Mogollon e colaboradores (2018) para culturas agrícolas ocorrerá um acréscimo de 22 a 27 toneladas na demanda destes produtos até 2050.

Existem microrganismos capazes de otimizar a utilização do fósforo disponível. Os microrganismos solubilizadores de fosfato atuam secretando enzimas que diminuem o pH do solo, isto ocorre quando estes utilizam das fontes de carboidratos fornecidas pelas raízes das plantas no ambiente rizosférico, assim as convertendo a ácidos orgânicos, sendo um exemplo os ácidos carboxílicos. Posteriormente os ácidos atacam os metais vinculados ao o fosfato como o cálcio, alumínio e ferro agindo como quelantes dos íons que mantêm o nutriente imóvel e facilitando sua liberação no ambiente. Sendo assim, os microrganismos solubilizadores de fosfato atuam na desmobilização e conversão do fósforo orgânico ao inorgânico o tornando assimilável para os vegetais (KAUSHAL, 2019; PRASAD, et. al., 2019).

Entretanto, existem outros mecanismos alternativos que possibilitam a liberação do fosfato inorgânico (PRABHU et al., 2019). Alguns microrganismos são capazes de secretar

ácidos inorgânicos como ácido nítrico, sulfúrico e carbônico, entretanto a efetividade da liberação do fosfato é menor quando comparada a atividade de ácidos orgânicos (RODRIGUEZ e FRAGA, 1999). Também é possível a solubilização de fosfato a partir da extrusão de prótons, este mecanismo possibilita a acidificação do solo, porém sem a emissão de ácidos, para isso a emissão de prótons  $H^+$  necessita da assimilação de  $NH_4^+$  e da produção de  $H_2CO_3$  durante a respiração, sendo assim o suplemento e a natureza do nitrogênio no ambiente afeta o grau de declínio de pH devido a quantidade de prótons que serão liberados (ARVIEU et al. 2003).

Outros dois mecanismos que podem ser citados são a emissão de exopolissacarídeos que podem se prender aos metais do solo evitando o sequestro de fosfato. Os polissacarídeos são produzidos pelos microrganismos mediante a condições extressantes e é observada uma correlação positiva no índice de solubilização de fosfato e a quantidade desses açúcares no solo (YI et al. 2008; IONESCU e BELKIN 2009). O segundo mecanismo seria a produção de sideróforos que são substâncias com ação quelante, a principal atividade deles acontece sobre o ferro também evitando sua união ao fosfato inorgânico e a sua consequente imobilização (GAONKAR e BHOSLE, 2013).

Quanto a diversidade destes microrganismos, é evidenciada sua distribuição em diferentes gêneros. Wan e colaboradores (2020) identificaram bactérias capazes de imobilizar metais pesados ao mesmo tempo em que utilizam de distintas fontes de fósforo disponíveis no ambiente sendo elas o fosfato de cálcio ( $Ca_3(PO_4)_2$ ), fosfato de ferro III ( $FePO_4$ ), fitato e fosfato de alumínio ( $AlPO_4$ ). As bactérias utilizadas foram coletadas da massa do solo e identificadas a partir do gene 16S, onde foram constadas pertencentes dos gêneros *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Massilia*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Stenotrophomonas*, *Ochrobactrum* e *Cupriavidus*. Entretanto também existem fungos capazes de desempenhar o mesmo papel. Dentre os gêneros dotados de tal capacidade estão *Trichosporon*, *Phichias*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Rhodotrula*, *Penicillium* e *Aspergillus* (GIZAW et al., 2017).

A aplicação agrícola destes microrganismos apresenta também resultados promissores. Gunes et al. (2009) estudaram a capacidade dos microrganismos em disponibilizar o fosfato para o solo, para isso foram utilizadas uma cepa de *Bacillus* sp. e um fungo do gênero *Aspergillus* assim sendo verificado o aumento de produção em morangueiros em relação ao conteúdo mineral de suas folhas e frutos. Diferentes

concentrações crescentes de fosfato foram adicionadas e os tratamentos foram feitos com a inoculação dos microrganismos separadamente, onde assim foi possível observar a capacidade individual de cada uma no incremento do crescimento do morangueiro. Foram observados efeitos benéficos onde a nível de campo houve o aproveitamento de 149 kg P ha<sup>-1</sup> por *Bacillus* e 102 kg P ha<sup>-1</sup> pelo *Aspergillus* dos fertilizantes fosfatados. Por fim também ocorreu o incremento da concentração de nutrientes com N, L, P, Ca e Fe nas folhas e frutos.

### 2.2.3 Síntese de Auxinas

Os hormônios vegetais são moléculas orgânicas responsáveis pela sinalização química nos vegetais. Sua capacidade regulatória já tem sido estudada nas plantas desde Charles Darwin e o botânico Francis Darwin na obra “O poder do movimento nas plantas” (DARWIN e DARWIN, 1881) em que os pesquisadores sugerem que compostos químicos são responsáveis pelo crescimento das plantas. Em geral os fitohormônios são compostos endógenos de baixo peso e tamanho molecular (1 µM) que em baixas concentrações desencadeiam respostas fisiológicas e metabólicas expressivas as quais influenciam em diversos aspectos do crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Existem nove classes de fitohormônios, os jasmonatos, estringolactonas, brasinoesteróides, salicilatos e as cinco principais classes as citocinas, ácido abscísico, etileno, giberilinas e auxinas (SU et al., 2017). Dentre estes citados as auxinas tem sido as mais estudadas, seu descobrimento aconteceu em 1928 pelo botânico Fritz Went que isolou o hormônio de coleóptilos de aveia em blocos de gelatina onde ele observou o intermédio deste na natureza e direcionamento do crescimento (WENT, 1935; MASUDA e KAMASIKA, 2000; DILWORTH, 2017).

As auxinas, em destaque o ácido indol-acético (IAA), promovem muitos eventos no desenvolvimento vegetal, entre eles a citocinese, alongamento e diferenciação celular, formação de raízes adventícias, desenvolvimento do xilema, tropismo, germinação de sementes, florescimento, frutificação, tolerância a estresses e biorremediação de metais (TAIZ e ZEIGER, 2009; EGAMBERDIEVA et al., 2017). Diferentes vias de biossínteses do hormônio são conhecidas, sendo o aminoácido triptofano (Trp) seu precursor. Ademais, existe uma grande influência dos microrganismos neste processo, Sarwar e colaboradores (1992) sugerem que o caráter fenotípico da microbiota influencia mais na síntese do hormônio que as características físicoquímicas do solo como o pH, carga catiônica e matéria orgânica.

Entre as vias metabólicas para síntese a mais clássica nos microrganismos é a via da indol-3-acetamida (IAM). Nessa via o Trp é convertido a IAM pela ação da enzima triptofano que é codificada pelos genes *aux1/iaaM*. Posteriormente pela ação da enzima IAM hidrolase é convertido diretamente a IAA. Entretanto também existem outras vias acessórias para essa síntese. Exemplos são a via indol 3-ácido pirúvico, e a via da triptamina (SARWAR et al., 1992; DI et al., 2015; HAN et al., 2018). Em geral a produção do hormônio pelos microrganismos é um mecanismo endógeno direto de crescimento para a planta (PARK et al., 2021).

Segundo Patten e Glick (1996), diversos organismos do solo, apresentam a capacidade de sintetizar IAA. É sugerido que cerca de 80% das bactérias rizosféricas possuem capacidade de produzir esse hormônio (FUENTES-RAMIREZ et al., 1993). A diversidade destes microrganismos é bem ampla Zhang et al. (2019) a partir de uma abordagem metagenômica identificaram diversos filos de microrganismos sintetizantes de auxinas em relação sua via de biossíntese, assim foram identificados Actinobacterias, Bacilos, Betaproteobacteria, Blastocatellia, Chitinophagia, Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria e Gemmatimonadetes.

A síntese de auxina confere a planta outros benefícios além daqueles citados. De acordo com Mathesius (2010) as auxinas estão envolvidas como mediadoras de processos de nodulação de rizóbios em plantas leguminosas. Seu transporte e acúmulo na raiz proporciona a diferenciação das células promovendo a vascularização responsável pelo aumento do número de nódulos. Além disso as mudanças que as auxinas causam na arquitetura das raízes contribuem para o desenvolvimento do vegetal, visto que a superfície do órgão responsável por captar recursos necessário ao crescimento é ampliada, assim também disponibilizando espaço para outras interações ecológicas com bactérias e fungos a partir do efeito rizosférico (SPAEPEN e VANDERLEYDEN, 2010).

Na agricultura bactérias sintetizadoras de auxinas são muito exploradas. Susilowati e colaboradores (2018) isolaram bactérias produtoras de IAA e observaram seus efeitos quando inoculadas em arroz. O experimento foi conduzido em casa de vegetação onde a partir da mensuração em espectrofotômetro foi constatado que dos 19 isolados 17 eram capazes de sintetizar o hormônio. Dentre os isolados uma estirpe de *Enterobacter* foi determinada a maior produtora de IAA sintetizando  $43.8 \text{ mg/L}^{-1}$ . A aplicação das bactérias no arroz induziu efeitos de crescimento interessantes, houve um

aumento de 99.54% da matéria seca das plantas inoculadas com *Bacillus aerius* quando comparadas ao tratamento controle no tratamento, as plantas em questão obtiveram uma massa relativa a 30.41g. De modo geral também foi observado o potencial de diversos microrganismos na promoção de crescimento, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fragi* e *Rhizobium* promoveram um ganho de porte nas plantas, *Bacillus aerius*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas fragi* promoveram um ganho na massa seca total, enquanto *Bacillus amyloliquenfaciens* possibilitou o incremento da massa seca nas raízes.

### **2.3 Aplicações de microrganismos promotores de crescimento em culturas agrícolas gerais.**

A seguir serão listados trabalhos que utilizaram de microrganismos para promover o crescimento de culturas específicas. Serão listados os respectivos mecanismos que beneficiaram as culturas, os microrganismos envolvidos e os resultados obtidos, principalmente durante co-cultivo evidenciando como esta estratégia pode ser benéfica as culturas e igualmente conciliável ao desenvolvimento sustentável.

Bradáčová e colaboradores (2019) conduziram um experimento para testar a efetividade de inoculantes microbiológicos em estirpes singulares ou em consórcios quando aplicadas no tomateiro. O Tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) variedade Primadora foi cultivado em casa de vegetação mediante a tratamentos com diferentes adubações. Adicionalmente bioestimulantes microbianos foram inoculados dentre os quais constavam DC® (Bayer CropScience) Microrganismo ativo *Penicillium* sp., Proradix® WP (Sourcon Padena) Microrganismo ativo: *Pseudomonas* sp., Rhizovital® (Abitep GmbH) Microrganismo ativo: *Bacillus amyloquefaciens* e o consórcio microbiano do produto MCP® (EuroCherm Agro) Microrganismos ativos: *Azotobacter vinlandii*, *Acetobacter*, *Enterococcus*, *Rhizobium japonicum*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Clostridium* sp., *Lactobacillus* sp., *Bacillus velezensis*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, e *Pseudomonas fluorescens* onde também são inclusos os fungos *Saccharomyces*, *Aspergillus oryzae* *Penicillium roqueforti*, *Monascus*, e *Trichoderma harzianum* além de estratos de algas.

O tratamento controle foi realizado sem a aplicação do bioestimulante. Em geral todos os inoculantes propiciaram uma melhor resposta nutricional em relação a definição e tamanho das frutas de cerca 39 a 85% quando comparados ao controle. O Resultado indicou que o consórcio MCP propiciou um incremento produtivo ao beneficiar a aquisição de fosfato,

estimulando o crescimento da biomassa de ramos vegetativos e o desenvolvimento final de frutos sob condições limitadas de P. Também foi observado que o produto beneficiou o enriquecimento da diversidade alfa das bactérias associadas a rizosfera.

Moretti e colaboradores (2020), efetuaram um experimento com inoculação de soja (*Glycine max* L.) com diferentes combinações de microrganismos na presença e ausência de metabólitos secundários no incremento produtivo. O consórcio bacteriano padrão utilizado foi composto por *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium diazoefficiens* adicionalmente outros microrganismos foram adicionados em diferentes tratamentos sendo eles *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense* e o extrato de metabólitos secundários extraídos de *B. diazoefficiens* e *Rhizobium tropici*. A inoculação padrão dos *Bradyrhizobium* sp. + *Azospirillum* + metabólitos secundários condicionou o aumento do nitrogênio foliar em 7.1%, do fósforo em 11.1%, do número de nódulos em 26% e da massa seca em 22%, sendo 15.4% referentes às raízes, e 6% aos ramos. Os aspectos agronômicos referentes aos grãos também foram beneficiados onde foram constatados o aumento de peso das sementes em 3.7%, o rendimento dos grãos acima de 516 Kg há<sup>-1</sup>, o conteúdo proteico foi avaliado em 2.4% e o índice de eficiência agrônomo foi mensurado em 11%. Os autores concluíram que a co-inoculação resultou em resultados positivos e promissores para o cultivo da soja em regiões tropicais.

Kumar e sua equipe (2016) isolaram e inocularam bactérias promotoras de crescimento vegetal da rizosfera de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) avaliando os resultados. Os inoculantes identificados como *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. e *Rhizobium leguminosarum* foram capazes de produzir AIA e sideróforos, além de solubilizar fosfato inorgânico. A inoculação foi realizada com as estirpes separadamente, em pares e em um tratamento triplo, o controle foi realizado sem a inoculação dos microrganismos. Durante os experimentos foi constatado que os isolados inibiram o desenvolvimento de diversos patógenos fúngicos. O tratamento composto pelo consórcio triplo beneficiou o incremento da massa seca em 96% quando comparado ao controle, adicionalmente foi verificado que este tratamento possibilitou um ganho no número de vagens por planta de 52%, do número de sementes por vagem em 54%/, um rendimento de grãos de 39%, um rendimento de palha de 22%, rendimento biológico de 27% e um índice de colheita de 16% parâmetros comparados ao tratamento controle.

Olanrewaju e Babalola (2019) testaram a aplicação da co-inoculação microbiana no milho (*Zea mays* L.). Foram utilizadas seis estirpes bacterianas indígenas, sendo testadas bioquimicamente quanto sua capacidade de promoção de crescimento e controle biológico. Os pesquisadores inocularam as sementes de milho em tratamentos singulares, duplos e triplos com diferentes combinações dos microrganismos. O consórcio triplo composto por *Bacillus subtilis* e duas *Pseudomonas* sp. apresentou os melhores resultados onde foram observados um incremento número de folhas, tamanho das raízes e no tamanho final da planta.

Ríos-Ruiz e colaboradores (2020) inocularam consórcios bacterianos em arroz (*Oryza sativa* L.) em campo avaliando o efeito das estirpes sob diferentes doses de fertilizantes nitrogenados. O arroz foi inoculado com um consórcio microbiano constituído por *Burkholderia ubonensis*, *Burkholderia vietnamiensis* e *Citrobacter bitternis*. O rendimento dos grãos foi alto, porém não significativo representando taxas entre 2.5% e 13.5% em tratamentos com 75% e 100% de nitrogênio quando comparados aos tratamentos não inoculados e não adubados. Já em tratamentos com baixa adubação nitrogenada (25%) o consórcio microbiano expressou resultados superiores onde foi visto o aumento de 32.8% de nitrogênio, 45,5% de fósforo e de 27,9% no potássio nas plantas ao comparar aos tratamentos que receberam dosagens completas do fertilizante. A utilidade 17.7-94.1% e a rentabilidade dos grãos 14.7-88.6% também foi maior em tratamentos inoculados. Os autores sugeriram com seu trabalho que o uso de microrganismos pode diminuir em até 25% na demanda de fertilizantes nitrogenados na mesma medida em que também incrementa a produtividade do arroz.

Wang e colaboradores (2020), evidenciaram o efeito benéfico da promoção de crescimento proporcionadas por bactérias em trigo (*Triticum* sp.). A gramínea foi cultivada com uma combinação de bactérias composta por *Bacillus* sp., *Agrobacterium tumefaciens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* sp. e *Klebsiella variicola*, foi observado que o consórcio possibilitou o aumento da hidrólise alcalina de nitrogênio (49.46%), e aumentou a disponibilidade de fósforo (99.1%) e potássio no solo (19.38%), consequentemente o conteúdo de N, P, K das plantas foi avaliado em 97.7%, 96.4% e 42.1%. De maneira semelhante ao experimento citado anteriormente os autores sugerem que o uso de microrganismos pode reduzir em 25% do uso de fertilizantes.

Nandish (2018), analisou o efeito de consórcios microbianos no crescimento do rabanete (*Raphanus sativus* L.), o autor optou por utilizar de uma formulação líquida do inoculante o que para ele representa uma abordagem ecologicamente mais sustentável. Desta maneira foram aplicados microrganismos com potencial avaliado em fixar nitrogênio e solubilizar fósforo e

fosfato, a inoculação mista contou com *Azotobacter* sp. *Bacillus megaterium* e *Bacillus mucilaginosus*. Após a formulação e aplicação do inoculante líquido foram observados seus efeitos sob o desenvolvimento do rabanete, aqueles que foram cultivados com em adubação em 75% apresentaram um aumento drástico na taxa de germinação atingindo 100%, o número de folhas aumentou também de forma interessante onde em 15 dias estavam presentes 15.70 folhas, em 30 dias 18.60 e em 45 dias 20.20 folhas. O conteúdo de clorofila estava em 2.90 mg/g por tecido, a massa seca estava em 29.9g e a fresca em 141.10g.

Kim e sua equipe (2012) verificaram o efeito da co-inoculação de microrganismo sob o crescimento da pimenta vermelha (*Capsicum annuum* L.) sobretudo avaliando a atividade enzimática no metabolismo de elementos fundamentais para o crescimento vegetal. Os autores utilizaram de um consórcio bacteriano composto por *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, e *Pseudomonas fluorescens*, e o resultado expresso indicou uma atividade desidrogenase de 3.5584  $\mu\text{g por TPF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  uréase de 15.8689  $\mu\text{g por NH}_4^- \text{ N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , fosfatase de 0.5692  $\mu\text{g por PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ,  $\beta$ -glicosidase de 2.4785  $\mu\text{g por PNP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e celulase de 86.1597  $\mu\text{g por glicose g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Ao analisar as plantas em si foi observado o crescimento do diâmetro das pimentas em 6.1% e em solos tratados com o inóculo de 8.1%.

Sendo assim os experimentos citados evidenciaram como os microrganismos podem otimizar a produção agrícola de maneira sustentável, incrementando as culturas e melhorando a qualidade dos solos e sobretudo diminuindo a necessidade de adubações excessivas. A aplicação de bactérias promotoras de crescimento em co-cultivo se mostra uma alternativa promissora e carece de pesquisas para inoculação de outras culturas, a exemplo a do morangueiro.

## **2.4 Aplicações de microrganismos promotores de crescimento em morangos**

Existem diversos estudos sobre promoção de crescimento relevantes para a cultura do morango. Serão descritos estudos que demonstraram de maneira prática como microrganismos podem ser aplicados de forma benéfica em morangueiros.

Andrade em 2019 realizou um experimento objetivando analisar o efeito de diferentes combinações de bactérias promotoras de crescimento na cultivar Aromas. Para isso foi feita a avaliação de 25 exemplares bacterianos presentes na Coleção de

Culturas da Microbiologia Agrícola (CCMA) quanto sua capacidade em fixar nitrogênio e produzir ácido indol acético. Após a análise a autora utilizou dos três melhores microrganismos para prosseguir com a inoculação de mudas em estufa, sendo eles *Azospirillum brasilense* Abv5, *Burkholderia cepacia* CCMA 0056 e *Enterobacter cloacae* CCMA 1285. A inoculação aconteceu com as bactérias isoladas, em pares e em um tratamento triplo com a inclusão de um controle sem inoculação, além disso elas também foram sujeitadas a diferentes níveis de adubação contendo 0% e 50% do requerimento de nitrogênio. Ao final foram realizados 16 tratamentos com oito repetições.

Concluídos 75 dias experimentais foram avaliadas o comprimento da raiz e parte aérea, massa seca da raiz e parte aérea, número de folhas e massa seca total. Os resultados evidenciaram que a inoculação mais benéfica foi a combinação tripla das bactérias a 50% de adubação, onde foi observado um aumento da matéria seca da parte aérea em 11,27 g para 21,44 g e para matéria seca da raiz de 4,71 g para 10,51 g quando comparados ao tratamento sem inoculação. Desta maneira foi concluído que os microrganismos influenciam positivamente no ganho de massa vegetal, seja pelo crescimento radicular (possivelmente pela síntese de fitohormônios), ou pelo crescimento da parte aérea devido outras vias de síntese como a fixação biológica de nitrogênio.

Por sua vez Moura em 2019 estudou também a influência de microrganismos promotores de crescimento na cultivar Aromas do morango. Os microrganismos utilizados foram isolados de raízes e folhas da planta, foram avaliados quanto a capacidade *in vitro* de fixar nitrogênio, solubilizar fosfato e sintetizar auxinas. Também foram verificados os efeitos benéficos das estirpes no incremento da massa e comprimento da parte aérea e raiz, bem como nas alterações anatômicas e fisiológicas relacionadas as folhas e a troca de gases envolvidos na fotossíntese. A inoculação foi realizada em mudas sob adubação reduzida (30% do requerimento de N e P) onde os tratamentos foram compostos da inoculação isolada de cada bactéria e com os controles com adubação completa e reduzida sem inoculação. Em relação a produtividade foi feita a avaliação dos efeitos da inoculação sobre a qualidade dos pseudofrutos.

A bactéria isolada da raiz MET12M2 *Brevibacillus* sp. foi a que melhor promoveu o crescimento na cultura. Em condições *in vitro* ela obteve resultados pertinentes quanto as três variáveis analisadas, de modo que a partir da inoculação foi visto que ela propiciou o crescimento do morangueiro mesmo com a redução de 70% do requerimento total de N e P. A estirpe possibilitou o ganho de 11,37 g da massa seca total enquanto o controle reduzido apresentou um ganho de 3,0 g e o com adubação completa em 12,05 g. O teor de nitrogênio

acumulado nos tecidos vegetais com a inoculação da bactéria foi de 121,81 mg, no controle reduzido foi de 31,98 mg e na adubação completa 144,76 mg.

Além disso, a estirpe propiciou uma maior taxa de absorção de CO<sub>2</sub> onde foi observada a assimilação de 16.57  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  enquanto os controles contribuíram em 6.7  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (adubação reduzida) e em 14,84  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (adubação completa). A espessura do limbo foliar com a inoculação de *Brevibacillus* foi de 249,994, na adubação reduzida foi de 178,87 e na adubação completa de 223,54. Quanto aos aspectos produtivos foi notado que as mudas inoculadas com *Brevibacillus* mesmo com a redução em 70% do requerimento de N e P obtiveram bons resultados como a produção média de 25 frutas por planta e uma porcentagem de 1,084% de ácido cítrico. Sendo assim é possível concluir que em específico *Brevibacillus* pode ser um inoculante interessante na promoção de crescimento no morangueiro.

Estudos realizados por outros pesquisadores podem ser citados. Tais trabalhos estão descritos conforme a **Tabela 1**.

**Tabela 1:** Trabalhos realizados em morangos com microrganismos promotores de crescimento.

<b>Microrganismos promotores de crescimento em morango</b>			
<b>Microrganismo/Consórcio</b>	<b>Cultivar do Morango</b>	<b>Ponto chave</b>	<b>Referência</b>
<i>(B) Azospirillum brasilense</i>	Camino Real	Redução da Adubação Nitrogenada no incremento produtivo (0 e 50% do total)	Lovaisa et al. 2016
	Milsei, Selva e Camarosa	Incremento no tamanho, área e matéria seca da raiz.	Pedraza et al. 2009
		Identificação do gene nifD. E transmissão da bactéria às plantas filhas via estolão.	Guerrero-Molina et al. 2012
<i>(B) Azospirillum brasilense</i> + <i>(B) Burkholderia vietnamensis</i>	Fortuna Florida	Incremento do índice de crescimento, conteúdo de clorofila e do número de frutos comerciais.	Lovaisa et al. 2015
<i>(B) Pseudomonas sp.</i> + <i>(B) Bacillus sp.</i>	Fern	Incremento do índice de crescimento. Aumento do conteúdo de P e Zn foliar. Aumento no conteúdo de P disponível no solo.	Esitken et al. 2010
<i>(B) Pseudomonas sp.</i> + <i>(F) Glomus mosseae</i> , <i>(F) Septoglomus viscosum</i> , <i>(F) Rhizophagus irregularis</i>	Eliana	Incremento do índice de crescimento. Incremento da qualidade nutricional dos frutos, aumento dos açúcares e antocianinas, modulação do pH, ácido málico e compostos voláteis.	Todeschini et al. 2018
<i>(F) Glomus intraradices</i>	Aromas	Incremento de compostos flavonóides de fenólicos.	Castellanos-Morales et al. 2010

<i>(B) Pedobacter sp. + (B) Bacillus safensis</i>	Camarosa	Aumento da troca de gases foliares.	Morais et al. 2019
<i>(B) Pedobacter sp.</i>		Aumento de compostos flavonóides e fenólicos nas folhas. Aumento na velocidade de amadurecimento e do período produtivo,	
<i>(B) Bacillus simplex</i>	Fern	Aumento do conteúdo de vitamina C nos frutos	Erturk et al. 2012
<i>(B) Paenibacillus polymyxa</i>			
<i>(B) Bacillus sp. + (F) Aspergillus sp.</i>	Fern	Aumento do conteúdo de P disponível no solo. Aumento da concentração de N, P, K, Ca e Fe foliares.	Günes et al. 2009
<i>(B) Sphingopyxis sp.</i>	Camarosa, Oso-Grande e SweetCharlie	Identificação de efeitos complementares entre a síntese de IAA e solubilização de fosfato.	Dias et al. 2008
<i>(B) Bacillus subtilis</i>			
<i>(B) Bacillus lentimorbus, (B) B. megaterium, (B) B. pumilis, (B) B. subtilis, (B) Enterobacter intermedius, (B) Kurthia sibirica, (B) Paenibacillus polymyxa</i>	Fern	Inibição da Proliferação do Fungo <i>Botrytis cinerea</i>	Donmez et al. 2011
<i>(B) Virgibacillus marismortui, (B) B. subtilis, (B) B. pumilus, (B) B. licheniformis, (B) Terribacillus halophilus, (B) Staphylococcus equorumand</i>	Frutos colhidos		Essghaie et al. 2009
<i>(F) Glomus mosseae, (F) Glomus geosporus</i>	Não especificada	Indução a Tolerância a seca	Boyer et al. 2014

**Legenda:** B=Bactérias, F = Fungos Micorrízicos.

## 2.5 A História do Morangueiro

O morangueiro é uma fruta bastante apreciada pelo mundo. É uma angiosperma dicotiledônea pertencente à família Rosaceae a qual abrange diversas plantas frutíferas significativas para a produção agrícola como maçãs, peras e pêssegos (RUBINSTEIN, 2015). A partir de Linnaeus sua classificação biológica atribui a palavra “*Fraga*” do latim morango

para identificar o seu gênero *Fragaria* (HUMMER e HANCOCK, 2009). Devido a sua facilidade de dispersão é nativo de várias regiões de clima temperado, tendo assim uma amplitude mundial (KÅRLUND, 2016; BERTIOLI, 2019).

Sua utilização é datada de tempos muito remotos havendo enalços do consumo do morango alpino *F. vesca* L. por civilizações pré-históricas da Europa nos períodos neolítico (10.000 a 6.000 a.C.) e da idade dos metais (5.000 a 4.000 a.C.) evidências estas obtidas pelo encontro de sementes em sítios arqueológicos (ANTUNES et al., 2016). Outros registros também constataam a utilização de *F. vesca* por Romanos e Gregos no início da era cristã (DARROW, 1966; SHARMA et al., 2019b) e a partir do século 13 ocorreu a disseminação da espécie por toda a Europa, onde suas folhas eram utilizadas para fins medicinais, além dos clássicos usos ornamentais e alimentícios (HANCOCK et al., 2008; ANTUNES et al., 2016).

Entretanto, a origem do morango não se atém somente à Europa. A hibridização de duas espécies de *Fragaria* é responsável pelo morango que consumimos em maior expressividade nos dias atuais. Uma dessas espécies é *F. virginiana* nativa da América do Norte, este morangueiro já era explorado por indígenas americanos como parte de sua alimentação, posteriormente após séries de expedições ele foi introduzido e disseminado nos países europeus. Registros afirmam que a partir de 1624 ele já estava presente em diversos jardins botânicos ao longo do continente (ANTUNES et al., 2016). A segunda espécie é *F. chiloensis*, este morangueiro é nativo de muitas regiões da América do Sul onde acredita-se que sua ampla dispersão foi realizada por aves migratórias (HANCOCK et al., 1999).

A espécie foi encontrada durante as jornadas de exploração espanholas nas costas peruanas e chilenas durante os anos de 1712 e 1714, e de forma semelhante ele foi introduzido no continente europeu (FINN et al., 2013). Aconteceu então de forma acidental a hibridização dessas duas espécies no Jardim Botânico Real da França por volta de 1750, pois as duas espécies eram cultivadas lado a lado (DARROW, 1966; HUMMER e JANICK, 2009). Assim *Fragaria ananassa* foi originada, a qual herda o vigor e produtividade de *F. virginiana* e o maior tamanho do fruto de *F. chiloensis* (CHANDLER et al., 2012). Rapidamente a nova espécie foi difundida ao longo do mundo demonstrando um ótimo potencial adaptativo em regiões com climas diversificados.

## 2.6 Aspectos Botânicos do Morangueiro

As plantas do gênero *Fragaria* tem uma grande heterogeneidade em suas características morfológicas. Em geral o morangueiro é uma planta de porte herbáceo e rasteiro (**Fig. 2**), alguns tecidos do vegetal apresentam lignificação parcial ao decorrer da senescência da planta. A parte exposta ao solo é denominada de coroa e pode atingir de 15 a 30 cm formando touceiras (ANTUNES et al. 2016). A planta é perene sendo recultivada anualmente para melhorar o seu vigor mediante a exposição a pragas e doenças (GIMÉNEZ et al, 2008; PICIO, 2010).

As raízes do morangueiro são adventícias e fasciculadas (PIRES et al., 2000). Categorizadas como primárias, as raízes adventícias são perduráveis estando dispostas em até 25 cm de profundidade no solo, as quais são as principais responsáveis pela assimilação e retenção de nutrientes (POLING, 2012). Já as raízes fasciculadas são longas e denominadas secundárias pois se desenvolvem lateralmente ao rizoma, são dispostas em camadas sobrepostas onde as raízes mais novas frequentemente se renovam sobre as antigas (PICIO, 2010). A reposição radicular é uma estratégia interessante para planta, já que possibilita o rejuvenescimento do órgão otimizando a absorção e promovendo uma ciclagem da microbiota radicular, assim eliminado patógenos e reestabelecendo simbioses (ANTUNES et al. 2016).

O seu caule é um rizoma cilíndrico e curto devido ao diminuto número de entrenós que apresenta. Das gemas axilares brotam folhas, inflorescências e estolhos que ao se organizarem de maneira espiral ao redor de um gomo foliar central originam o aspecto semelhante a uma coroa (ANTUNES et al. 2016). O desenvolvimento e integridade do caule é um fator muito importante, isto está relacionado a resistências abióticas e conseqüentemente condizem com a melhor produtividade do vegetal (POLING, 2012).

O morangueiro possui folhas estipuladas trifoliadas compostas as quais possuem pecíolos próprios, porém todas unidas a um pecíolo longo principal que brota da coroa (QUEIROZ-VOLTAN, 1996; HYTÖNEN, 2009). Cada folíolo apresenta uma conformação oval com margem dentada (FRUIT CROPS, 2020), apresentando também diversos estômatos com função primordial na respiração da planta. A superfície foliar é muito importante para as plantas pois a eficiência fotossintética está diretamente ligada a esta razão, conseqüentemente quanto maior a superfície foliar maior a produtividade vegetal (ANTUNES et al. 2016).

Das gemas axilares das folhas se originam os estolões estruturas que crescem prostradas ao solo como uma forma de crescimento vegetativo. Ele é constituído de nós e entrenós onde a partir das rosetas foliares presentes em sua extensão alongada originam raízes que propagam

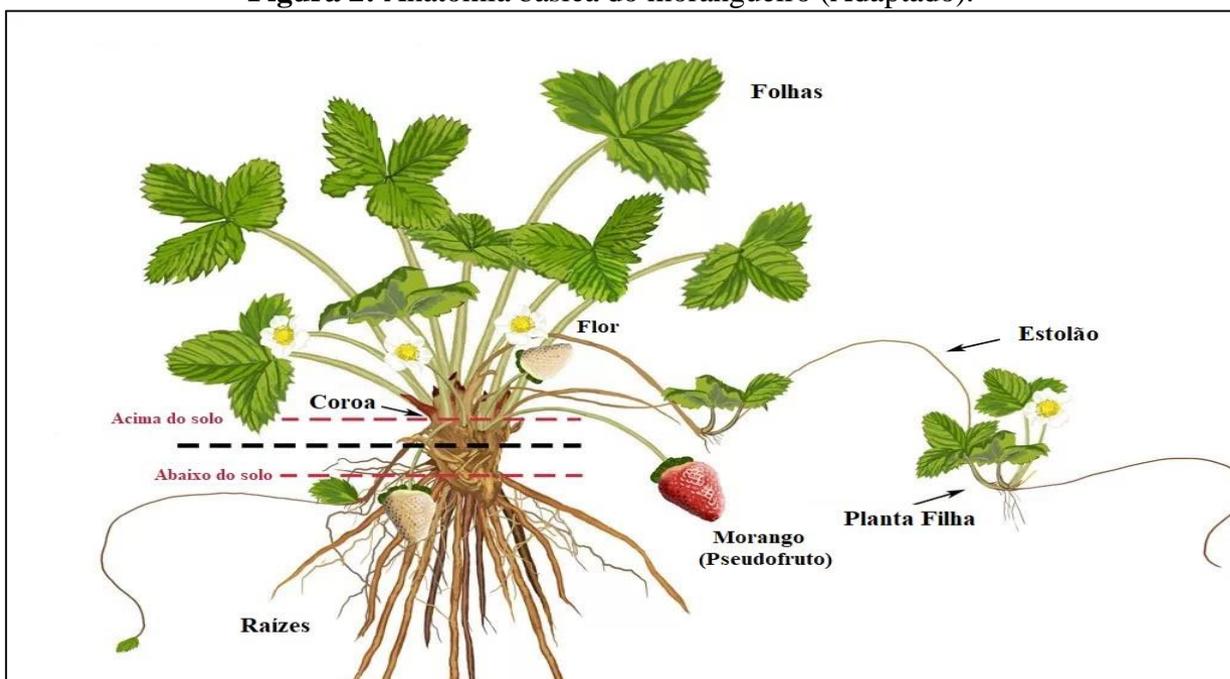
plantas independentes (SAVINI et al., 2008). Essa forma de reprodução assexuada confere a principal forma de propagação comercial do morango, uma vez que diversas mudas clones podem extraídas de uma matriz (PICIO, 2010).

O morangueiro também pode se propagar de maneira sexuada a partir da diferenciação de meristemas apicais vegetativos. Quando isso acontece o broto axilar superior desenvolve uma coroa para sustentar o novo ramo reprodutivo (DARROW, 1996; KOSKELA e HYTÖNEN, 2018). Deste modo, uma inflorescência do tipo cimeira é originada onde um número variável de flores desabrocham em cadeia após o desenvolvimento da primeira (ANTUNES et al. 2016).

As flores se caracterizam por serem hermafroditas e por apresentarem até 10 sépalas, 5 pétalas brancas e ovais, diversos pistilos dispostos em espiral ao centro floral e até 36 estames. A polinização cruzada é realizada por insetos das ordens Lepidoptera (borboletas) e Coleoptera (besouros), porém a maior significância é expressa pela ordem Hymenoptera com as abelhas do gênero *Apis* (SVENSSON, 1991; ABROL et al., 2019) e igualmente por abelhas nativas. A reprodução sexuada é de extrema importância pois a partir dela o fruto é desenvolvido, já com a diversidade de agentes polinizantes contribui com aspectos produtivos como qualidade e durabilidade do morango (EMBRAPA, 2018).

Os frutos do morangueiro são arquênios. Quando fecundados os óvulos do morango estimulam a hipertrofia do receptáculo floral, assim o pseudofruto vermelho e carnoso com o tamanho aproximado de 6 cm é gerado constituindo a parte comestível e comercializada da cultura. Da polinização até o desenvolvimento completo do pseudofruto transcorrem-se de 20 a 50 dias (ANTUNES et al. 2016), e neste período diversas mudanças metabólicas acontecem. O desenvolvimento e amadurecimento do morango é condicionado pelo balanço de açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos contribuindo para o seu sabor final (PERKINS-VEAZIE, 1995; MOING, 2001).

**Figura 2:** Anatomia básica do morangueiro (Adaptado).



**Fonte:** Horta e Alecrim (Blog). Disponível em: <http://hortelaealecrim.blogspot.com/2018/02/plantar-morangos.html>.

## 2.7 Composição e Características Nutricionais do Morango

O morango é bastante apreciado por ser uma fruta pequena, de fácil preparo e ingestão, sendo consumido tanto *in natura* quanto como ingrediente em receitas de doces e laticínios (CASTRICI et al., 2017). Quanto suas características organolépticas apresenta uma coloração vermelha brilhante e conformação cônica que atrai muito a atenção quando servido em cortes, sendo este apelo estético um grande responsável pelo seu consumo (TACO, 2011). Além disso apresenta aroma bastante característico, uma consistência macia e um sabor doce levemente acidificado (MORAES et al., 2008).

Adicionalmente o morango também apresenta características nutricionais importantes, sendo fonte de vitaminas e minerais (GUIMARÃES et al., 2013). Quanto suas propriedades nutracêuticas, em 100g de morango possuem aproximadamente uma umidade de 91,5%, apresenta um conteúdo de proteínas (0,67g), lipídeos (0,30g), carboidratos (7,68g), dentre os quais se destacam a sacarose (0,47g), frutose (2,44g) e glicose (1,99g). Sua composição mineral conta com elementos como cálcio, potássio, magnésio, fósforo e ferro, além de possuir vitaminas significantes como a C e as do complexo B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>8</sub> e B<sub>9</sub>). O alimento também possui valores baixos de calorias (30kcal) representando uma excelente alternativa para

dietas com restrições calóricas (FRANCOSO et al., 2008; TACO, 2011; GIAMPIERI et al, 2012).

A eliciação do sabor do morango resultada da combinação de muitos componentes como ácidos, açúcares, compostos voláteis, pigmentos, estrutura e turgor (CHRISTENSEN, 1983; SCHWIETERMAN et al., 2014). Os carboidratos são os grandes responsáveis pelo sabor do morango influenciando também no amadurecimento, do pseudofruto quando conseqüentemente seu incremento resulta no aumento de ésteres voláteis precursores responsáveis pelo seu aroma (BOOD e ZABETAKIS, 2002).

Segundo Ogiwara e colaboradores (1998) os açúcares mais abundantes envolvidos no sabor do morango são respectivamente a sacarose, frutose e glicose, sendo que a composição total de carboidratos pode mudar entre as variáveis da fruta, porém esta proporção se mantém a mesma. Existe um incremento da concentração de glicose e frutose durante o desenvolvimento, já a concentração de sacarose aumenta em seu amadurecimento. (PERKINS-VEAZIE, 1995; MOING, 2001). Após, ocorre a diminuição destes açúcares sendo isto relacionado com o aumento do peso do pseudofruto (MONTERO et al., 1996). Já o leve sabor acerbo do morango é provindo das concentrações de ácidos orgânicos não voláteis os quais modificam o pH celular do pseudofruto, dentre eles o ácido cítrico é o mais significativo (KADER, 1991).

Além disso, outros componentes estruturais de frutas e vegetais tem sido bastante explorados devido a recorrente difusão de práticas saudáveis de alimentação. Os fitoquímicos são um exemplo, apresentam natureza variável podendo ser compostos fenólicos, nitrogenados, alcaloides, carotenoides, dentre outros. Em geral apresentam ação antioxidante minimizando danos estruturais causados à componentes celulares podendo até prevenir a proliferação de neoplasias (BAENA, 2015). No morango um destes fitoquímicos são as antocianinas, tratam-se de compostos polifenólicos responsáveis pela coloração avermelhada do pseudofruto sendo quantitativamente também os compostos mais importantes dessa classe. Existem cerca de 25 diferentes antocianinas no morango, a mais representativa é pelargonidina-3-glucosídeo seguida da cianidina-3-glicosídeo (GIAMPIERI et al, 2012).

## 2.8 Produção e Comercialização do Morango

Todas culturas agrícolas apresentam uma faixa de crescimento ótima em relação as condições ambientais, sendo algumas mais tolerantes a variação climática e outras não. Para o morangueiro não é diferente, das variáveis mais importantes para seu desenvolvimento estão o fotoperíodo (tempo de exposição diário a luz) e a temperatura (SERÇE e HANCOCK, 2005). Em relação a essa consonância existem duas categorizações principais para seu cultivo, as cultivares de dia curto que florescem mediante a períodos de exposição luminosa menor que 12 horas e temperatura baixa, e dia neutro que são aquelas que não dependem da luminosidade para florescer, mas que necessitam de temperatura suficientemente altas (10 – 28°C) para manter a frutificação, isso possibilita que essas cultivares venham a reflorescer consecutivas vezes produzindo diversas vezes ao ano (TAKEDA et al. 2008; COCCO et al. 2016; VIDAL e SANTOS, 2017).

Das cultivares de dia curtos podem ser citadas: Camarosa, Oso Grande, Camino Real, Festival, Fronteras e Merced. Já dentre as cultivares de dia neutro estão: Albion, San Andreas, Monterrey, Portola, Aromas, Cabrillo e Cristal. Cada uma destas cultivares de morango apresenta variações fenotípicas e genotípicas (VIDAL e SANTOS, 2017).

Contudo, como visto anteriormente existem diversas cultivares para uma mesma fruta. A explicação disso deve-se ao desenvolvimento de programas de melhoramento genético que possibilitam a variação na produtividade. Com isso tem-se incrementado o número e tamanho dos frutos produzidos, melhor coloração e resistência da polpa, alteração do sabor (acidez e doçura), resistências e tolerâncias abióticas como a temperatura e ao fotoperíodo, resistências bióticas a patógenos específicos e também o aumento da durabilidade das frutas em prateleira (MOURA, 2019). Segundo Galvão (2014) existem mais de 40 programas de melhoramento genético para o morangueiro ao longo do mundo a maioria concentrada na América do Norte e Europa. No Brasil de acordo com Castro (2004) os programas de melhoramento genético iniciaram-se em 1941 mediados pelo Instituto Agrônomo de Campinas.

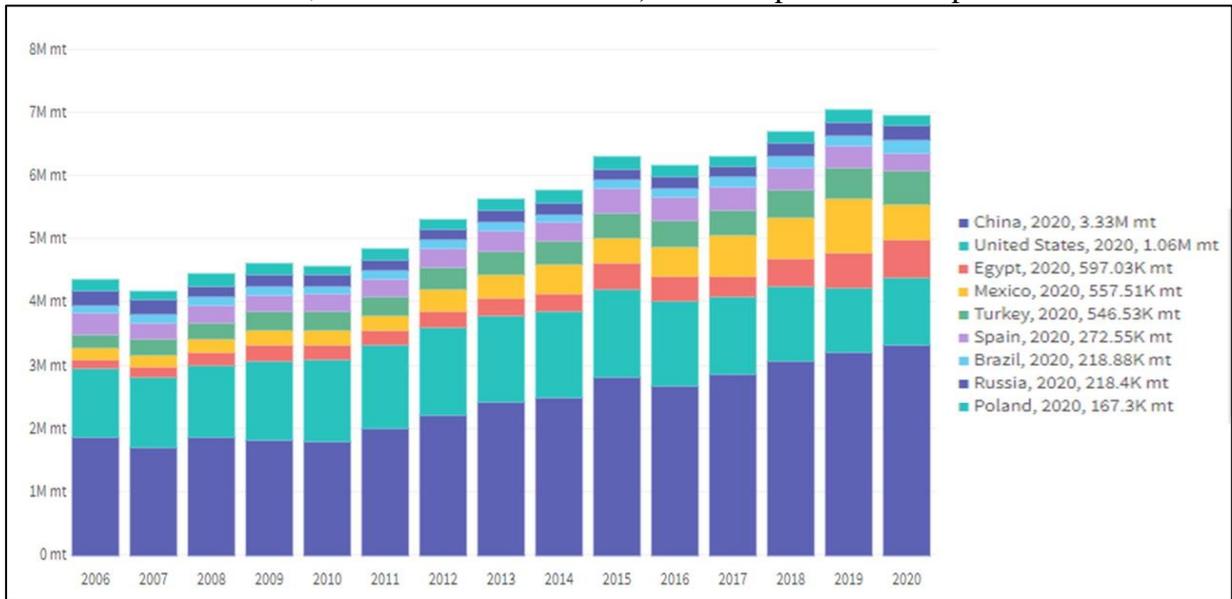
De acordo com Zeist e Resende (2019) no Brasil os programas de melhoramento genético do morango devem contemplar algumas características para que sua produção e comercialização se equipare a cultivares internacionais. Dentre estas características estão o aumento do rendimento por colheita, aumentar a resistência a patógenos na mesma proporção que seja diminuída a necessidade de aplicação de defensivos agrícolas, diminuir o número de perdas em campo, aumentar a eficiência de absorção de água e nutrientes, melhorar a qualidade

nutricional dos frutos e também conciliar questões como a sustentabilidade agrícola e preservação do meio ambiente. Desta maneira é possível observar que a propagação do morango é muito relativa aos seus programas de melhoramento, sendo que a escolha da cultivar pode demonstrar melhores resultados ao produtor.

O morangueiro é cultivado sob muitos sistemas de produção se adequando a necessidade e espaço disponível ao produtor. Dentre eles estão os sistemas hidropônicos, e de cultivo direto no solo. Um dos sistemas mais adotados no Brasil é o de *mulching*, trata-se da utilização de malhas plásticas (geralmente de coloração preta) que possibilita fundamentalmente a elaboração de um microclima para as plantas no solo. A utilização dessas malhas atende o revestimento em canteiros evitando perdas de água e solo, otimizando a eficiência no uso de fertilizantes e reduzindo a incidência de plantas daninhas e doenças. O método também evita que os frutos entrem em contato direto com o solo, assim ocorre a redução da contaminação de morangos sendo está uma alternativa relativamente mais asséptica (BORTOLOZZO et al., 2007; UENO, 2014; PILLA e GIMENEZ, 2017). A rotação da cultura é recomendada para evitar a incidência de doenças (BORTOLOZZO et al., 2007; ANTUNES e PERES, 2013).

O morango é difundido em escala mundial. Sua produção conta com uma área beneficiada de cerca de 372 mil hectares ao longo do globo, de onde são colhidos um volume anual maior que 8 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2018a). O continente asiático apresenta a maior contribuição para a prospecção da cultura onde 46.6% são produzidos, o continente americano segue contribuindo com 25.9% e em terceiro lugar está o continente europeu com 25.2%. Em relação aos países, o maior produtor mundial de morango é a China com uma produção relativa de 40.3% do total (TRIDGE, 2020), tais tendências estão apresentadas na **Fig. 3**.

**Figura 3:** Tendências globais da produção de morango de 2006 a 2020. Toneladas por ano (K: mil toneladas, M: milhões de toneladas). Cores representam os países.

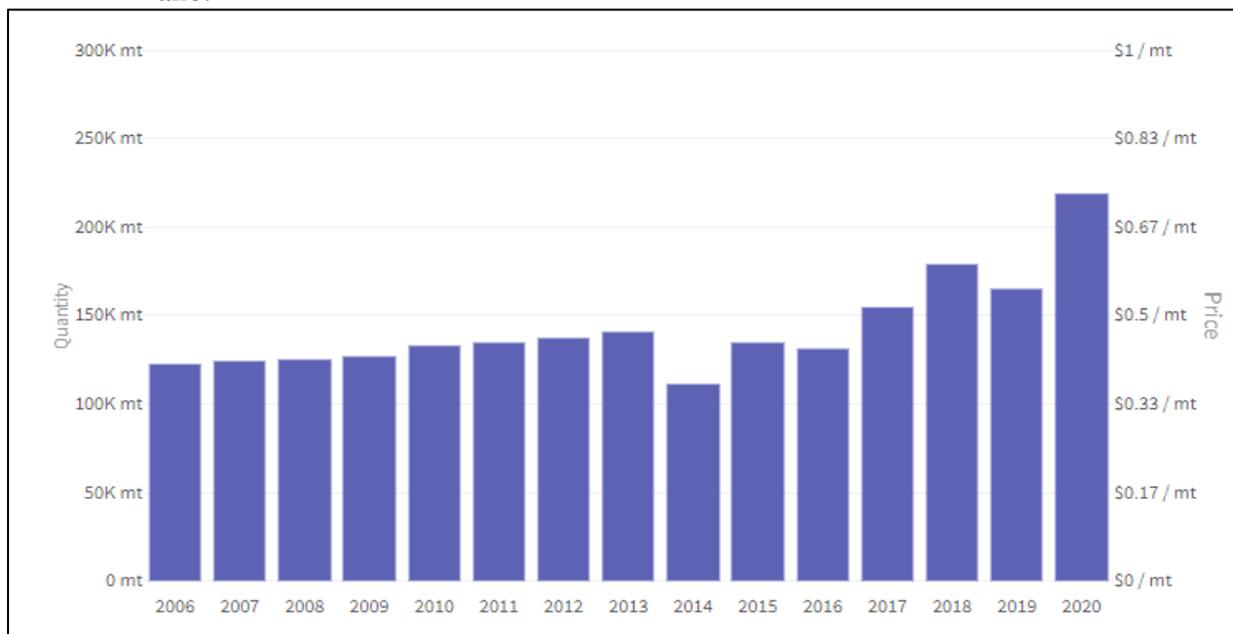


**Fonte:** Tridge.com. Disponível em: <https://www.tridge.com/products/stawberry/production>

De acordo com Hommel (2019), a produção global de morango nos últimos 5 anos (2013 - 2018) foi crescente, onde existe uma maior demanda do produto para datas comemorativas. Além disso, foi visto que em 2018, 891 mil toneladas de morango foram exportadas movimentando um capital de 2.6 bilhões de dólares, sendo a Espanha a maior exportadora do produto. Quanto a importação foi constatada a movimentação 2.9 milhões de dólares em 911 mil toneladas onde o país que mais adquiriu o produto foram os Estados Unidos.

Quanto ao cenário nacional do morango a época de cultivo segue de janeiro a maio, contudo o sucesso da cultura é muito dependente da região e também da temperatura (RESENDE, 2011; MACHADO, 2016). A produção ultrapassou 100 mil toneladas, sendo os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul os maiores contribuintes (FAGHERAZZI et al., 2017). Segundo Resende Filho e colaboradores (2017) em 2016 a área beneficiada pela cultura de morango foi de 4300 hectares sendo produzidas 155,440 toneladas da fruta, o resultado disso foi o rendimento de R\$1,2 bilhões. Os números da produção de morango no Brasil podem ser consultados na **Fig. 4**.

**Figura 4:** Produção de Morango no Brasil de 2006 a 2020. Quantidade (K: mil toneladas) por ano.



**Fonte:** Tridge.com. Disponível em: <https://www.tridge.com/production/0544/BR>

O cultivo do morangueiro beneficia pequenos e médios produtores sendo uma alternativa viável para a complementação de renda e produção familiar. Isto demonstra que a produção do morango se mostra promissora para os próximos anos no país (ANTUNES e PERES, 2013).

## 2.9 Sustentabilidade Agrícola

Conseqüentemente a grande produção de morango carece também de uma alta demanda de defensivos agrícolas. Isto decorre principalmente da fragilidade da cultura que a torna mais suscetível a doenças e pragas, além de práticas inadequadas de aplicação destes insumos (COSTA et al., 2012). De modo geral, a superfície terrestre cultivada no planeta equivale a um terço do seu total (excluindo áreas congeladas) (RAMANKUTTY et al., 2008). A agricultura constitui o meio de vida para cerca de 40% da população global, sendo uma atividade fundamental para a produção de alimentos, combustíveis e matéria prima, o que provêm o sustento para o crescente número de 7 bilhões de habitantes do planeta (RAMANKUTTY et al., 2018).

Alexandratos e Bruinsma (2012), estimam que a população global irá crescer 35% até 2050. Isto exigirá o aumento de 60% da produção agrícola em relação a

produção atual. Contudo, junto a este incremento de produção também será necessário o aumento da demanda de defensivos agrícolas, justamente para garantir o sucesso das culturas mediante as pragas em campo, ou também para regular o crescimento vegetal. São aplicados ao longo do globo cerca de 2 milhões de toneladas de pesticidas 47% herbicidas, 29.5% inseticidas e 17.5% fungicidas (5.5% outros) sendo previsto que até em 2020 ocorrerá um aumento expressivo com o uso de 3.5 milhões de toneladas (ZHANG, 2018; SHARMA et al. 2019a). Os cinco países que mais consomem pesticidas de acordo com a FAOSTAT (2018b) são China, Estados Unidos, Brasil, Argentina e Rússia e isto evidencia como a sociedade se encontra atualmente dependente da aplicação destes defensivos. No Brasil em particular são utilizados aplicados 20% do total de pesticidas utilizados mundialmente, incluindo uma lista de diversos defensivos banidos em alguns países devidos a seus severos efeitos toxicológicos (FERNANDES et al., 2020; PAUMGARTTEN, 2020).

Entretanto muitas vezes a aplicação de defensivos agrícolas é realizada de maneira indiscriminada. Isto implica em impactos severos nas condições ecossistêmicas, principalmente no solo e água, para a biota natural e até para a saúde do trabalhador e consumidor (PIGNATI, 2018). Práticas de fertilização insustentáveis também colaboram para o desequilíbrio de ciclos biogeoquímicos, eutrofização de corpos hídricos e na emissão de gases de efeito estufa (AMUDSON et. al, 2015; STEFFEN et al., 2015). As contaminações com agrodefensivos persistem por muito tempo no ambiente e podem ser bioacumuladas e biomagnificadas nos seres vivos o que acarretam efeitos toxicológicos ainda mais delicados (SRIVASTAVA et al, 2020).

De acordo com Khan et al. (2002), os defensivos agrícolas causam impactos adversos para a recuperação de agrossistemas e meio ambiente, assim como para a sociedade maiores que o próprio retorno econômico gerado pela sua aplicação. (GHIMIRE e WOODWARD, 2013). Pimentel (2005) estimou os custos desprendidos nos Estados Unidos para arcar com a recuperação social em diversas vertentes. Foi visto que são gastos por ano US\$9645 milhões dos quais de maneira mais significativa são arcados US\$2160 milhões nas perdas de pássaros, US\$2000 relativos à contaminação do solo e água, US\$1140 milhões utilizados para cobrir os impactos na saúde pública, US\$334 em perdas de abelhas e outros polinizadores entre outros valores.

De maneira mais crucial o uso de pesticidas promove a seleção de pragas no ambiente. Naturalmente estes agentes adquirem resistência aplicação de defensivos devido ao processo de seleção natural. Bourguet e Guillemaud, (2016) afirmam que já foram relatados mais de

10000 casos de resistência a 300 diferentes tipos de inseticidas em artrópodes, e 300 casos de resistência a 30 fungicidas diferentes por parte de fungos fitopatogênicos. O que impressiona nestes casos é a quantidade de espécies que conseguiram desenvolver a resistência, onde nos dois casos mais de 200 espécies sobrevivem a aplicação dos pesticidas.

O uso demasiado de agrotóxicos e seus impactos na saúde especialmente a longo prazo tem se tornado uma preocupação principalmente no que se refere a aceitação destes pelo consumidor. Mebdoua (2018) alertou sobre a persistência de resíduos de pesticidas em vegetais e frutas em concentrações excedentes aos limites padronizados. No Brasil segundo suas análises 59.32% de 7278 frutas (um total de 4294 frutas) apresentam resíduos de agroquímicos impregnados. Sendo assim é necessária a intervenção no atual sistema de produção agrícola a partir da elaboração e conscientização de produtos que diminuam a necessidade de aplicação de insumos químicos.

Tem-se falado muito em desenvolvimento sustentável em questões levantadas em contrapartida a aplicação de insumos químicos. Este termo foi estipulado em 1987 pela Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento parte da ONU no relatório de Brundtland e desde então em demais conferências de cunho ambiental como a Rio-92 e Rio + 20 (DATTO, 2020). O objetivo fundamental seria a conciliação do desenvolvimento econômico, social e conservação ambiental de modo a preservar os recursos naturais no presente garantindo sua perpetuação para as próximas gerações.

No Brasil a lei N° 6938/81 que rege a Política Nacional do Meio Ambiente dispõe de deliberações que possibilitem no país o cumprimento de todas as vertentes estipuladas para o desenvolvimento sustentável. Para tanto, no Artigo 2° existem medidas que assumem a responsabilidade governamental em assegurar a manutenção do equilíbrio ecológico. Nele é constatando que o meio ambiente é um patrimônio público, a proteção de ecossistemas e a racionalização de recursos como solo, subsolo, ar e água são pretendidas em formas de planejamento e fiscalização, sobretudo exaltando o controle e zoneamento das atividades potencialmente poluidoras a regiões não fragilizadas. No Artigo 3° existem algumas definições para explicitar o conceito de poluição. De acordo com a lei trata-se de qualquer atividade direta e indireta que influenciem negativamente as condições do meio ambiente, da biota e saúde e segurança da população, assim resultando na emissão de matéria ou energia de diferentes formas no meio ambiente. Já o Artigo 4° delibera sobre os objetivos da política nacional do

meio ambiente e um deles é o incentivo a elaboração de pesquisas nacionais que orientem o uso nacional do meio ambiente, sendo está uma medida essencial para a minimização dos impactos causados agora e futuramente pelas atividades humanas (BRASIL, 1981).

Recentemente estratégias alternativas de produção estão sendo difundidas com maior facilidade, estas ideias são bases da ciência conhecida como agrobiologia. De acordo com Mérida (2020), a agrobiologia representa um sistema global de gestão da produção, a diversidade biológica deve prevalecer determinando um ambiente sustentável a partir da integração de processos biológicos, mecânicos, físicos e agronômicos. Entretanto a mudança do nosso atual sistema agrícola para um mais sustentável encontra alguns desafios. Segundo Eyhorn e colaboradores (2019) é possível conduzir essa transição de uma maneira sinérgica e natural adotando algumas intervenções como incentivar e ampliar as medidas que facilitem a incorporação destes sistemas, estimular a demanda do mercado para o consumo de alimentos saudáveis, incentivar melhorias nos sistemas alimentares e de produção já os direcionando a práticas sustentáveis e por último exigir por parte da indústria uma pressão de aceitação de produtos ecologicamente sustentáveis.

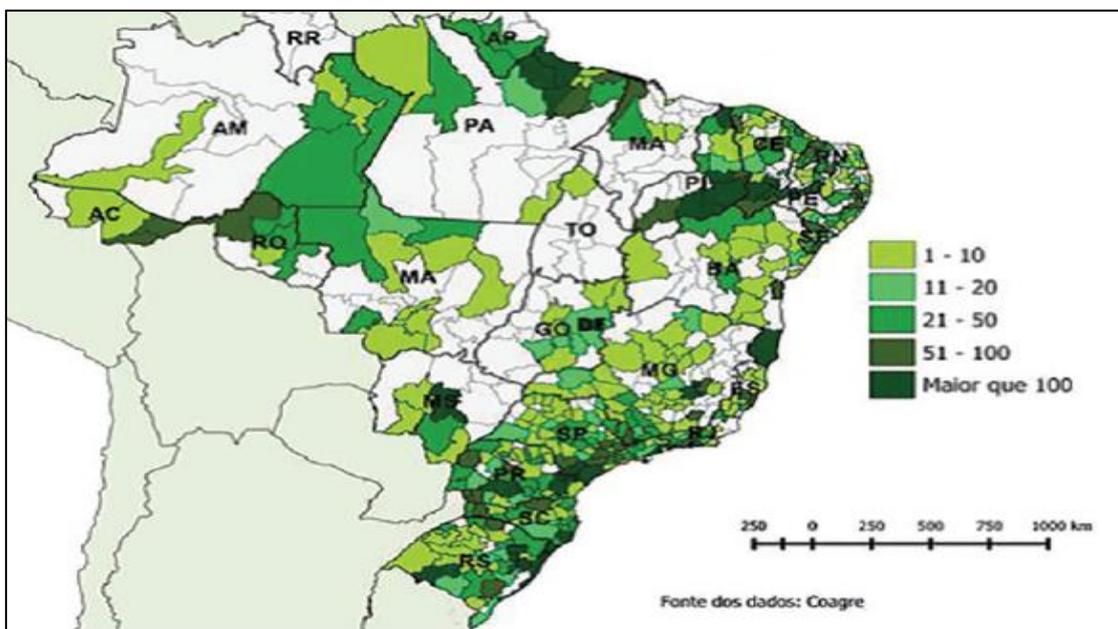
Como fruto da agricultura sustentável nasce um mercado absolutamente promissor, o de produtos orgânicos. Abrangidos pela lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003 dispõe sobre a agricultura orgânica outras providências, os orgânicos são aqueles que possuem uma qualidade diferenciada mediante a outros por pertencerem a sistemas produtivos com o uso reduzido/restrito de insumos aplicados de maneira intencional. É de muita importância para o país uma legislação sobre este tipo de produto pois possibilita ao agricultor direitos perante a justiça a sua mercadoria e da mesma maneira estabelece ao consumidor parâmetros para avaliar a qualidade do produto que adquire.

Em outras linhas a lei dos produtos orgânicos também dispõe sobre a preservação da biodiversidade em ecossistemas naturais, promover o uso sustentável do solo, da parcela biótica presente neste e mais importante de sua fertilidade a longo prazo, a reutilização e reciclagem de recursos renováveis. Além disso é necessário promover a integração dos produtos orgânicos na sociedade (BRASIL, 2003).

De modo geral, o mercado de orgânicos no Brasil é auspicioso. Em 2018 cerca de 17 mil produtores e 22 mil unidades de produção orgânica estavam registradas (LIMA et al., 2020) sendo também estimado o crescimento anual de 20% deste mercado (SEBRAE, 2020). Em números os produtos orgânicos lucram nas casas de bilhões, segundo a Organização Brasileira da Produção Orgânica e Sustentável em 2018 foram arrecadados R\$ 4 bilhões e em 2019 de R\$

4,6 bilhões (REVISTA GLOBO RURAL, 2020a). A **Fig. 5** apresenta a disposição de unidades de produção orgânica no país.

**Figura 5:** Mapa das unidades de produção orgânica no Brasil.



**Fonte:** Lira 2018.

O Brasil, mesmo com algumas limitações é um país referência na preservação do meio ambiente e desenvolvimento sustentável. De forma recorrente surgem novas soluções que beneficiam a interação e o desenvolvimento de novas tecnologias ecologicamente viáveis, uma delas é o decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020 que institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. Por definição do decreto bioinsumos são produtos, tecnologias ou processos de origem animal, vegetal ou microbiana e que interfiram positivamente no crescimento destes de processos agrícolas e florestais de uma.

Além disso, o programa incentiva o firmamento de parcerias públicas e privadas para o desenvolvimento de bioinsumos, e estabelece estruturas necessárias para suportar a sua produção segundo as boas práticas agrícolas. Também são diretrizes do programa estimular alternativas de desenvolvimento focadas na redução da contaminação e desperdícios de recursos de uma forma ecologicamente sustentável e economicamente viável, valorizar a biodiversidade brasileira e implementar sistemas sustentáveis de produção.

Entre seus objetivos estão fomentar a pesquisa e apoiar o desenvolvimento de empresas com esse fim, criar uma base de dados atualizada sobre bioinsumos e também beneficiar sistemas produtivos sustentáveis (agricultura sustentável, sistemas agroecológicos e agroflorestais, recuperação de pastagens e integração lavoura-pecuária-floresta). Nota-se que o conselho para a regulamentação proposto pelo decreto apresenta uma boa representatividade por parte de seus integrantes sendo eles componentes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicação, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais (IBAMA), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) além de representantes da sociedade civil (BRASIL, 2020).

Em termos econômicos os bioinsumos beneficiam bem a economia. Em 2019 ocorreu a movimentação de R\$ 675 milhões com o crescimento de 15% em relação ao ano anterior. Segundo o diretor Cleber Soares (Ministério da Agricultura) o Brasil apresenta 40 milhões de hectares cultivados com bactérias promotoras de crescimento utilizadas em processos agrícolas como promotoras de crescimento, e conforme Croplife uma empresa que reúne empresas do setor de biodefensivos, existem 73 projetos relacionados pela Embrapa e 319 produtos biológicos registrados no Ministério da Agricultura (REVISTA GLOBO RURAL 2020b).

Sendo assim, é possível observar um futuro promissor. Existe um incentivo governamental para a conservação dos recursos e qualidade ambiental, a partir de políticas e decretos. Da mesma forma, também existe uma boa prospecção e desenvolvimento de produtos e tecnologias voltados a preservação.

### **3 Considerações Finais**

Ao longo deste referencial teórico foi discutido o potencial biotecnológico dos microrganismos associados a promoção de crescimento em plantas. De modo específico, a aplicação destes para cultura do morango se faz uma justificativa promissora mediante os desafios necessários para atingir um desenvolvimento sustentável e viável às próximas gerações. Sobretudo, a cultura do morango está crescendo em um ritmo promissor, e a utilização de métodos sustentáveis já neste início de expansão seria uma maneira de assegurar uma agricultura ecologicamente estável.

Nas últimas décadas a sociedade vem ressignificando a importância do manejo do meio ambiente tanto como modulador de condições, quanto também provedor de recursos. Desta maneira, abordagens como a produção de bioinsumos e a agricultura orgânica podem ser conciliadas de modo que os microrganismos sejam incrementos produtivos que reduzam demanda de insumos químicos, gerando ao mesmo tempo alimentos de qualidade.

Sendo assim, estudos e desenvolvimento de novas tecnologias a partir de microrganismos promotores de crescimento devem ser cada vez mais fomentados. Os resultados obtidos em diversas publicações científicas e a elaboração crescente de produtos biológicos corroboram o seu uso como vetores de um desenvolvimento sustentável. De tal modo, o potencial dos promotores de crescimento sugere eles como protagonistas dos novos métodos agrícolas que serão desenvolvidos no futuro.

## REFERÊNCIAS

- ABROL, D. P. *et al.* **Impact of insect pollinators on yield and fruit quality of strawberry.** Saudi Journal of Biological Sciences, v. 16, n. 3, p. 524-530, 2019.
- ACZEL, M. R. **What is the nitrogen cycle and why is it key to life?** Frontiers for Young Minds. 2019. Disponível em: <<https://kids.frontiersin.org/article/10.3389/frym.2019.00041>> Acessado em: 2 de out de 2020.
- AFZAL, I. *et al.* **Plant Beneficial Endophytic Bacteria: Mechanisms, Diversity, Host Range and Genetic Determinants.** Microbiological Research, v. 221, p-36-49, 2019.
- AHMAD, S. *et al.* **Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to drought stress at germination and seedling growth stages.** Pak. J. Botany, v, 41, n. 2, p. 647-654, 2009.
- ALEXANDER, D. B.; ZUBERER, D. A. **Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria.** Biology and Fertility of Soils, v.12, n. 1. p.39-45, 1991.
- ALEXANDRATOS, N.; BRUINSMA, J. **World agriculture towards 2030/2050,** ESA Working Paper, Agricultural Development Economics Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, v. 12, n. 3, 2012.
- ANDRADE, F. M. *et al.* **Beneficial effects of inoculation of growth-promoting bacteria in strawberry.** Microbiological Research, 2019.
- ANTUNES, L.; PERES, N. **Strawberry Production in Brazil and South America.** International Journal of Fruit Science, v. 13. p. 156-161, 2013.
- ANTUNES, L. E. C.; JÚNIOR, C. R.; SCHWENGBER, J. E. **Morangueiro.** 1. ed. Brasília - DF: Embrapa., p.35-47, 2016.

ANTUNES, L. E. C.; REISSER JUNIOR, C.; BONOW, S. **Morango: produção aumenta ano a ano.** Anuário HF 2021. Revista Campo e Negócios, p. 87 – 90, 2021.

ARORA, D. *et al.* **Expanding the chemical diversity through microorganisms co-culture: Current status and outlook.** Biotechnology Advances, v. 107521. v.40, 2020.

ARVIEU, J. C.; LEPRINCE, F.; PLASSARD, C. **Release of oxalate and protons by ectomycorrhizal fungi in response to P-deficiency and calcium carbonate in nutrient solution.** Ann For Sci., v. 60, p. 815 – 821, 2003.

ASGHAR, H. *et al.* **Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L.** Biol. Fert. Soils, v. 35, p. 231-237, 2002.

BAENA, R. C. **Muito além dos nutrientes: o papel dos fitoquímicos nos alimentos integrais.** Diagn Tratamento, v. 20, n. 1, p. 17-21. 2015.

BAKKER, P. A. H. M. *et al.* **The rhizosphere revisited: root microbiomics.** Frontiers in Plant Science, v. 4, 2013.

BALESTRINI, R. *et al.* **Plant-Soil Biota Interactions.** Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry, p. 311–338, 2015.

BARDGETT, R. D.; CARUSO, T. **Soil microbial community responses to climate extremes: resistance, resilience and transitions to alternative states.** Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 375, n. 20190112, 2020.

BENDER, S. F.; WAGG, C.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. **An Underground Revolution: Biodiversity and Soil Ecological Engineering for Agricultural Sustainability.** Trends in Ecology & Evolution, v. 31, n. 6, p. 440–452, 2016.

BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. J.; BAKKER, P. A. H. M. **The rhizosphere microbiome and plant health.** Trends in Plant Science, v. 17, n. 8, p. 478–486, 2012.

BERTIOLI, D. J. **The origin and evolution of a favorite fruit.** Nature Genetics, v. 51, n. 3, p. 372–373, 2019.

BIELESKI, R. L. **Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability.** Annu Rev Plant Physiol v. 24, p. 225–252, 1973.

BILLAH, M. *et al.* **Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture.** Geomicrobiology Journal, v. 36, n. 10, p. 904–916, 2019.

BINDRABAN, P. S.; DIMKPA, C. O.; PANDEY, R. **Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health.** Biology and Fertility of Soils, 2020.

BLOOM, A. J. **The increasing importance of distinguishing among plant nitrogen sources.** Current opinion in plant biology, v. 25, n. 10, p. 10 – 16, 2015.

BOOD, K. G.; ZABETAKIS, I. **The Biosynthesis of Strawberry Flavor (II): Biosynthetic and Molecular Biology Studies.** Journal of Food Science, v. 67, n. 1, p. 2–8. 2002.

BORTOLOZZO, A. R. *et al.* **Produção de morangos no sistema semihidropônico.** Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 2 ed., 24 p., 2007.

BOURGUET, D.; GUILLEMAUD, T. **The Hidden and External Costs of Pesticide Use.** Sustainable Agriculture Reviews, p. 35–120, 2016.

BOWEN, G. D., ROVIRA, A. D. **The Rhizosphere and Its Management To Improve Plant Growth.** Advances in Agronomy, v. 66, p. 1–102, 1999.

BRADÁČOVÁ, K. *et al.* **Microbial Consortia versus Single-Strain Inoculants: An Advantage in PGPM-Assisted Tomato Production?** Agronomy, v. 9, n. 2, 2019.

BRASIL. **Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020.** Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 mai. 2020.

BRASIL. **Lei nº 10.831, de 23 de dezembro 2003.** Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 dez. 2003.

BRASIL. **Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981.** Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 31 ago. 2020.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo.** ESALQ, v. 2, 221 p., 2016.

CASTELLANOS-MORALES, V. *et al.* **Root colonisation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* alters the quality of strawberry fruits (*Fragaria × ananassa* Duch.) at different nitrogen levels.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 90, p. 1774–1782, 2010.

CASTRO, R. L. **Melhoramento genético do morangueiro: avanços no Brasil.** SIMPOSIO NACIONAL DO MORANGO, 2, ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1. (Ed.) Raseira, et al. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 296 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 124).

CHANDLER, C. K. *et al.* **Strawberry.** In: BADENES, M.L.; BYRNE, D.H. (Eds). Fruit breeding, handbook of plant breeding 8, Science + Business Media, LLC, 2012.

CHANDRAN, H.; MEENA, M.; SWAPNIL, P. **Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as a Green Alternative for Sustainable Agriculture.** Sustainability, v.13, n. 19, 2021.

CHRISTENSEN, C. M. **Effects of Color on Aroma, Flavor and Texture Judgments of Foods.** Journal of Food Science, v. 48, n. 3, p. 787–790, 1983.

CHURCH, M.; BÖTTJER, D. **Diversity, Ecology, and Biogeochemical Influence of N<sub>2</sub>-Fixing Microorganisms in the Sea.** Encyclopedia of Biodiversity, v. 2, p. 608–625, 2013.

CH'NG, H. Y.; AHMED, O. H.; MAJID, N. M. A. **Improving Phosphorus Availability in an Acid Soil Using Organic Amendments Produced from Agroindustrial Wastes.** The Scientific World Journal, v. 2014, p. 1–6, 2014.

COCCO, K. A.T. *et al.* **Estimated phyllochron in low tunnel cultivated strawberry cultivars.** *Ciência Rural*, v. 46, n. 9, p. 1546-1552, 2016.

COELHO, L. F.; FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; AMBROSANO, G. M. B. **Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas.** *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, v. 31, n. 6, p. 1413-1420, 2007.

COELHO, V. A. T. *et al.* **Macronutrients and boron deficiency visual symptoms characterization in ornamental ginger.** *Ornamental Horticulture*, v. 18, n. 1, p. 47-55, 2012.

COSTA, R. *et al.* **Efeito de agrotóxicos usados na cultura do morangueiro sobre o predador *Phytoseiulus macropilis* (Banks) em laboratório, semicampo e campo no sul de Minas Gerais.** *Revista Agrogeoeambiental, Pouso Alegre – MG*, v. 4, n. 3, 2012.

DARROW, G. M. **The Strawberry. History, Breeding and Physiology.** Holt, Rinehart and Winston Nova York, 1966.

DARWIN, C.; SIR DARWIN, F. **The Power of Movement in Plants.** D. Appleton and Company, p. 592, 1881.

DATTO, F. **Desenvolvimento sustentável: conceito, origem e exemplos.** Meio Sustentável. 2020. Disponível em: <<https://meiosustentavel.com.br/desenvolvimento-sustentavel/>> Acesso em: 30 de set. 2020.

DAY, A. D.; LUDEKE, K. L. **Plant Nutrients in Desert Environments. Adaptations of Desert Organisms.** Springer - Verlag Berlin Heidelberg. 1993.

DI, D. W. *et al.* **The biosynthesis of auxin: how many paths truly lead to IAA?** *Plant Growth Regulation*, v. 78, n. 3, p. 275–285, 2015.

DIAS, A. C. F. *et al.* **Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion.** *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 25, n. 2, p. 189–195, 2008.

DILWORTH, L. L.; RILEY, C. K.; STENNETT, D. K. **Plant Constituents.** *Pharmacognosy*, p. 61–80, 2017.

EGAMBERDIEVA, D. *et al.* **Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness.** *Frontiers in Microbiology*, v. 8, 2017.

EL-YAZEID, A. A. *et al.* **Enhancing growth, productivity and quality of squash plants using phosphate dissolving microorganisms (bio phosphor) combined with boron foliar spray.** *Res. J. Agric. Biol. Sci.*, v. 3, n. 4, p. 274-286, 2007.

EMBRAPA. **Polinização por diferentes espécies de abelhas é essencial na produção de morango.** 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/34954306/polinizacao-por-diferentes-especies-de-abelhas-e-essencial-na-producao-de-morango>. Acesso em: 1 jul. 2020.

ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA. **Phosphorus.** *Encyclopædia Britannica*, inc. 2019. Disponível em: <<https://www.britannica.com/science/phosphorus-chemical-element>>. Acesso em: 2 out. 2020.

ERTURK, Y.; ERCISLI, S.; CAKMAKCI, R. **Yield and growth response of strawberry to plant growth-promoting rhizobacteria inoculation.** Journal of Plant Nutrition, v. 35, n. 6, p. 817–826, 2012.

ESITKEN, A. *et al.* **Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry.** Scientia Horticulturae, v. 124, n. 1, p. 62–66, 2010.

EYHORN, F. *et al.* **Sustainability in global agriculture driven by organic farming.** Nat Sustain., v. 2, p. 253–255, 2019.

FAGHERAZZI, A. F. *et al.* **Strawberry production progress in Brazil.** Acta Hort., v. 1156, p. 937-940, 2017.

FERNANDES, C. *et al.* **Distribution of pesticides in agricultural and urban soils of Brazil: a critical review.** Environmental Science: Processes & Impacts. v. 22, p.256-270, 2020.

FILIP, Z. **International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters.** Agric Ecosyst Environ, v. 88, p. 169–174, 2002.

FINN, C. E.; RETAMALES, J. B.; LOBOS, G. A.; HANCOCK, J. F. **The Chilean Strawberry (*Fragaria chiloensis*): Over 1000 Years of Domestication.** HortScience horts, v. 48(4). p. 418-421, 2013.

Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAOSTAT. **Food and Agricultural commodities production.** Roma: FAOSTAT. 2018a. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 2 out. 2020.

Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAOSTAT. **Total Pesticides Use.** 2018b. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>. Acesso em: 2 out. 2020.

FRANCOSO, I. L. T. *et al.* **Alterações físico-químicas em morangos (*Fragaria anassa* Duch.) irradiados e armazenados.** Ciênc. Tecnol. Aliment, v. 28, n. 3, p. 614-619, 2008.

FUENTES-RAMIREZ, L. E.; CABALLERO-MELLADO, J. **Bacterial Biofertilizers. PGPR: Biocontrol and Biofertilization.** Springer. Printed in the Netherlands, p. 143–172, 2005.

FÚNEZ GUERRA, C. *et al.* **Technical-economic analysis for a green ammonia production plant in Chile and its subsequent transport to Japan.** Renewable Energy, v. 157, p. 404 -414, 2020.

FRANCHE, C.; LINDSTRÖM, K.; ELMERICH, C. **Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants.** Plant Soil, v. 321. p. 35–59, 2009.

FRUIT CROPS. **Strawberry – *Fragaria X ananassa*.** Disponível em: <https://www.fruit-crops.com/strawberry-fragaria-x-ananassa>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GALVÃO, A.G. **Hibridação de morangueiro e seleção de clones com potencial para cultivo no sul de Minas Gerais.** 2014.77p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

GAONKAR, T.; BHOSLE, S. **Effect of metals on a siderophore producing isolate and its implications on microbial assisted bioremediation of metal contaminated soils.** Chemosphere, v. 93, p. 1835 – 1843, 2013.

GHIMIRE, N.; WOODWARD, R. T. **Under- and over-use of pesticides: An international analysis.** Ecological Economics, v. 89, p. 73–81, 2013.

GIAMPIERI, F. *et al.* **The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health.** Nutrition, v. 28, n. 1, p. 9–19, 2012.

GIMÉNEZ, G.; ANDRIOLO, J.; GODOI, R. **Cultivo sem solo do morangueiro.** Ciência Rural, v. 38, n. 1, p. 273–279, 2008.

GIZAW, B. *et al.* **Phosphate Solubilizing Fungi Isolated and Characterized from Teff Rhizosphere Soil Collected from North Showa and Gojam, Ethiopia.** Journal of Fertilizers & Pesticides, v. 8, n. 2, p. 180, 2017.

GLICK, B. R. **Soil Microbes and Sustainable Agriculture.** Pedosphere, v. 28, n. 2, 167–169, 2018.

GOMES, E. A. *et al.* **Microrganismos promotores do crescimento de plantas.** Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG, p. 51, 2016.

**Governo lança programa de incentivo a bioinsumos no país.** Revista Globo Rural. Mai 2020b. Disponível em: <https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2020/05/governo-lanca-programa-de-incentivo-bioinsumos-no-pais.html> >. Acesso em: 20 set. 2020.

GRUBER, N.; GALLOWAY, J. N. **An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle.** Nature, v. 451, n. 7176, p. 293–296, 2008.

GUERRERO-MOLINA, M. F.; WINIK, B. C.; PEDRAZA, R. O. **More than rhizosphere colonization of strawberry plants by *Azospirillum brasilense*.** Applied Soil Ecology, v. 61, p. 205–212, 2012.

GUIMARÃES, A. G., *et al.* **Características físico-químicas e antioxidantes de cultivares de morangueiro no Vale do Jequitinhonha.** Tecnol. & Ciên. Agropec. João Pessoa, v. 7, n. 2, p.35-40. 2013.

GUNES, A. *et al.* **Effects of phosphate-solubilizing microorganisms on strawberry yield and nutrient concentrations.** Journal of Plant Nutrition and Soil Science, v. 172, n. 3, p. 385–392. 2009.

GUPTA, V. V. S. R. *et al.* **Diazotroph Diversity and Nitrogen Fixation in Summer Active Perennial Grasses in a Mediterranean Region Agricultural.** Soil.Frontiers in Molecular Biosciences, v. 6, 115 p., 2019.

HAN, X. *et al.* **Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review.** Fermentation, v. 4, n. 2, 25 p., 2018.

HANCOCK, J. F.; LAVÍN, A.; RETAMALES, J. B. **Our Southern Strawberry Heritage: *Fragaria chiloensis* of Chile.** HortScience. v. 34, p. 814-816, 1999.

HANCOCK, J. F.; SJULIN, T. M.; LOBOS, G. A. **Temperate fruit crop breeding: Strawberries**, p. 393-438, 2008.

HOLFORD, I. C. R. **Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants**. Aust J Soil Res, v. 35, p. 227–239, 1997.

HOMMEL, A. **Global Market Update: Strawberry**. Tridge. Disponível em: <<https://www.tridge.com/stories/global-market-update-strawberry>>. Acesso em: 17 set. 2020.

HUANG, C. H. *et al.* **Early Diagnosis and Management of Nitrogen Deficiency in Plants Utilizing Raman Spectroscopy**. Frontiers in Plant Science, v. 11, 663p., 2020.

HUMMER, K. E.; HANCOCK, J. F. **Strawberry Genomics: Botanical History, Cultivation, Traditional Breeding, and New Technologies**. Genetics and Genomics of Rosaceae, 2009.

HUMMER, K. E.; JANICK, J. **Rosaceae: Taxonomy, Economic Importance, Genomics. Genetics and Genomics of Rosaceae**. p 1–17, 2009.

HYTÖNEN, T. **Regulation of strawberry growth and development**. 62f. Dissertation (Masters in Biosciences). University of Helsinki, Helsinki. 2009.

IONESCU, M.; BELKIN, S. **Overproduction of exopolysaccharides by an *Escherichia coli* K-12 rpoS mutant in response to osmotic stress**. Appl Environ Microbiol, v. 75, n. 2, p. 483 – 492, 2009.

IVELL, D. M. **Phosphate Fertilizer Production – From the 1830's to 2011 and Beyond**. Procedia Engineering, v. 46, p. 166–171, 2012.

KADER, A. A. **Quality and its maintenance in relation to the postharvest physiology of strawberry**, p.145-152, 1991. In: A Dale and J. J. Luby (ed). The Strawberry into the 21st. Timber Press, Portland, Oregon.

KALKMAN, C. **Rosaceae**. In: Flora Malesiana 1. 2. ed. [s.l.: s.n.], p. 227-351, 1993.

KANT, S.; BI, Y. M.; ROTHSTEIN, S. J. **Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency**. Journal of Experimental Botany, v. 62, n. 4, p. 1499–1509, 2010.

KÅRLUND, A. **The Impact of Genetic Background and Cultivation Methods on the Bioactive Compounds and Sensory Properties of Strawberries**. Publications of the University of Eastern Finland. Dissertations in Health Sciences. v. 377, 2016.

KASCHUK, G.; HUNGRIA, M. **Diversity and Importance of Diazotrophic Bacteria to Agricultural Sustainability in the Tropics**. Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics, p. 269–292, 2017.

KAUSHAL, M. **Climatic Resilient Agriculture for Root, Tuber, and Banana Crops using Plant Growth-Promoting Microbes**. Climate Change and Agricultural Ecosystems, Elsevier, p. 307–329, 2019.

KHAN, M. A. *et al.* **Economic Evaluation of Pesticide Use Externalities in the Cotton Zones of Punjab, Pakistan**. The Pakistan Development Review, v. 4, n. 41, p. 683-698, 2002.

KIM, Y. H. *et al.* **Soil Microbial Community Analysis using Soil Enzyme Activities in Red Pepper Field Treated Microbial Agents.** Journal of Applied Biological Chemistry, v. 55, n. 1, p. 47–53, 2012.

KNOTH, J. L. *et al.* **Biological nitrogen fixation and biomass accumulation within poplar clones as a result of inoculations with diazotrophic endophyte consortia.** New Phytologist, v. 201, n. 2, p. 599–609, 2013.

KOO, B. *et al.* **Root exudates and microorganisms.** Encyclopedia of Soils in the Environment, p. 421–428, 2005.

KOSKELA, E. A.; HYTÖNEN, T. **Control of Flowering in Strawberries.** The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives, p. 35–48, 2018.

KRONECK, P. M. H.; TORRES, M. E. S. **The Metal-Driven Biogeochemistry of Gaseous Compounds in the Environment.** Metal Ions in Life Sciences, v. 14, 334p., 2014.

KUMAR, P. *et al.* **Bacteria consortium optimization improves nutrient uptake, nodulation, disease suppression and growth of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in both pot and field studies.** Rhizosphere, v. 2, p. 13–23, 2016.

KUNDAN, R. *et al.* **Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Mechanism and Current Prospective.** Journal of Fertilizers & Pesticides, v. 6, n. 2, 2015.

KURAMAE, E. E. *et al.* **Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type,** FEMS Microbiology Ecology, v. 79, n. 1, p. 12–24, 2012.

LIMA, S. K. *et al.* **Produção e consumo de produtos orgânicos no mundo e no Brasil.** IPEA. Textos para Discussão 2358. Brasília - DF. 2020.

LIRA, V. M. C. **Produção orgânica no Brasil.** Brasília: MAPA, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/2nfbd5i>. Acesso em: 23 set. 2020.

LOVAISA, N. C, *et al.* **Response of strawberry plants inoculated with *Azospirillum* and *Burkholderia* at field conditions.** Revista agronómica del noroeste argentino, v. 35, n. 1, p. 33–36, 2015.

LOVAISA, N. C. *et al.* **Total and marketable fruit yield of strawberry plants grown under different levels of nitrogen fertility and inoculated with *Azospirillum brasilense* REC3.** Revista agronómica del noroeste argentino, v. 36, n. 1, p. 43–46, 2016.

LUKAC, M. **Introduction: The Role of Soil Biodiversity in Ecosystem Productivity and Resilience.** Soil Biological Communities and Ecosystem Resilience, p. 1–7, 2017.

MACHADO, J. **Strawberry cultivation in Brazil.** Revista Geama, v. 2, n. 3, 2016.

MALHOTRA, H. *et al.* **Phosphorus Nutrition: Plant Growth in Response to Deficiency and Excess.** Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance. Springer, p. 171–190, 2018.

MARINO, R. W.; HOWARTH, R. **Nitrogen Fixation.** Encyclopedia of Inland Waters, p. 65–72, 2009.

- MARULANDA, A.; BAREA, J. M.; AZCÓN, R. **Stimulation of Plant Growth and Drought Tolerance by Native Microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from Dry Environments: Mechanisms Related to Bacterial Effectiveness.** *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 28, n. 2, p. 115–124, 2009.
- MASUDA, Y.; KAMISAKA, S. **Discovery of Auxin.** *Discoveries, Plant Biology*, p. 43–57, 2000.
- MATHESIUS, U. **Auxin: at the root of nodule development?** *Funct Plant Biol*, v. 35, p. 651–668, 2010.
- MEBDOUA, S. **Pesticide Residues in Fruits and Vegetables.** Reference Series in Phytochemistry, p. 1–39, 2018.
- MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. **The rhizosphere microbiome: significance of plant-beneficial, plantpathogenic and human-pathogenic microorganisms.** *FEMS Microbiology Reviews*, Amsterdam, v. 37, p. 634–663, 2013.
- MENDES, R. *et al.* **Deciphering the Rhizosphere Microbiome for Disease-Suppressive Bacteria.** *Science*, v. 332, n. 6033, p. 1097–1100, 2011.
- MÉRIDA, L. G. R. **Agrobiología, aspectos y generalidades.** Mérida Publishers. 93p. 2020.
- MODAK, J. M. **Haber process for ammonia synthesis.** *Resonance*, v. 7, n. 9, p. 69–77, 2002.
- MOGOLLON, J. M. *et al.* **Future agricultural phosphorus demand according to the shared socioeconomic pathways.** *Glob Environ Chang*, v. 50, p. 149–163, 2018.
- MOHAMMADI, K.; SOHRABI, Y. **Bacterial biofertilizers for sustainable crop production: a review.** *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, v.7, n. 5, p. 307- 316, 2012.
- MOING, A. *et al.* **Biochemical Changes during Fruit Development of Four Strawberry Cultivars.** *Journal of the American Society for Horticultural Science* jashs, v. 126, n. 4, p. 394–403, 2001.
- MONTERO, T. M. *et al.* **Quality attributes of strawberry during ripening.** *Scientia Horticulturae*, v. 65, n. 4, p. 239–250, 1996.
- MORAES, I. V. M. *et al.* **Características físicas e químicas de morango processado minimamente e conservado sob refrigeração e atmosfera controlada.** *Food Science and Technology*, v. 28, n. 2, p. 274–281, 2008.
- MORAIS, M. C. *et al.* **Comparative study of plant growth-promoting bacteria on the physiology, growth and fruit quality of strawberry.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**, 2ed. Lavras: Editora UFLA, 729p., 2006.
- MORETTI, L. G. *et al.* **Bacterial Consortium and Microbial Metabolites Increase Grain Quality and Soybean Yield.** *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2020.

MOURA, G. G. D. de. **Seleção de bactérias promotoras de crescimento vegetal na cultura do morangueiro**. 2019. 162 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

NANDISH, M. S. **Development and evaluation of liquid plant growth promoting rhizo microbial consortia for healthy Radish (*Raphanus sativus*) production**. 14th Annual Conference on Crop Science and Agriculture. Agrotechnology, v. 7, 2018.

OGIWARA, I. *et al.* **Variation in Sugar Content in Fruit of Four Strawberry Cultivars Grown in the Field and under Forced Culture, Harvest Years, and Maturation Stages**. Engei Gakkai Zasshi, v. 67, n. 3, p. 400–405, 1999.

OLANREWAJU, O. S.; BABALOLA, O. O. **Bacterial Consortium for Improved Maize (*Zea mays* L.) Production**. Microorganisms, v. 7, n. 11, 2019.

OLANREWAJU, O. S.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. **Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria**. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 33, n. 11, 2017.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. **Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid**. Canadian Journal of Microbiology, v. 42, n. 3, p. 207–220, 1996.

PATIL, B. S. *et al.* **Nitrogen Fixation**. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, p. 1–21, 2017.

PAUMGARTTEN, F. J. R. **Pesticides and public health in Brazil**. Current Opinion in Toxicology, v. 22, p.7–11, 2020.

PAPPU, A. R. *et al.* Nitrogen Cycle in Engineered and Natural Ecosystems—Past and Current. Current Pollution Reports, v. 3, n. 2, p. 120–140, 2017.

PEDRAZA, R. O. *et al.* **Growth-promotion of strawberry plants inoculated with *Azospirillum brasilense***. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 26, n. 2, p. 265–272, 2009.

PERKINS-VEAZIE, P. **Growth and ripening of strawberry fruit**. Hort. Rev., v. 17, p. 267–297, 1995.

PHILIPPOT, L. *et al.* **Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere**. Nature Reviews Microbiology, v. 11, n. 11, p. 789–799, 2013.

PICIO, M. D. **Multiplicação de mudas matrizes obtidas de pontas de estolões de morangueiro em diferentes épocas**. 35f. Dissertação (Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS. 2010.

PIGNATI, W. **Uso de agrotóxicos no brasil: perspectiva da saúde do trabalhador e ambiental**. Rev Bras Med Trab. v. 16, 37 p., 2018.

PILLA, R. V.; GIMENEZ, J. I. **Cultivo de morangueiro em diferentes sistemas sob ambiente protegido**. Revista científica eletrônica de agrônômia. 2017.

PIMENTEL, D. **Environmental and Economic Costs of the Application of Pesticides Primarily in the United States**. Environ Dev Sustain., v. 7, p. 229–252, 2005.

PIRES, C. M. *et al.* **Profundidade efetiva do sistema radicular do morangueiro sob diferentes coberturas do solo e níveis de água.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 35, n. 4, p. 793- 799, 2000.

POLING, E. B. **Strawberry plant structure and growth habit.** New York State Berry Growers Association, Berry EXPO, 2012.

PRABHU, N.; BORKAR, S.; GARG, S. **Phosphate solubilization by microorganisms.** Advances in Biological Science Research, p. 161–176, 2019.

PRASAD, M. *et al.* **Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture.** PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture, Elsevier, p. 129–157, 2019.

PTÁČEK, P. **Phosphate Rocks. Apatites and Their Synthetic Analogues - Synthesis, Structure, Properties and Applications.** INTECH, 2016.

QIU, Z. *et al.* **New frontiers in agriculture productivity: Optimized microbial inoculants and in situ microbiome engineering.** Biotechnology Advances v. 37, 2019.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B. *et al.* **Caracterização botânica de cultivares de morangueiro.** Bragantia, v. 55, n. 1, p. 29-44, 1996.

RAKLAMI, A. *et al.* **Use of Rhizobacteria and Mycorrhizae Consortium in the Open Field as a Strategy for Improving Crop Nutrition, Productivity and Soil Fertility.** Frontiers in Microbiology, v. 10, 2019.

RAMANKUTTY, N. *et al.* **Farming the planet: 1: Geographic distribution of global agricultural lands in the year 2000.** Global. Biogeochemical Cycles, v. 20, 2008.

RAMANKUTTY, N., *et al.* **Trends in Global Agricultural Land Use: Implications for Environmental Health and Food Security.** Annual Review of Plant Biology, v 69, 2018.

RASMANN, S.; TURLINGS, T. C. **Root signals that mediate mutualistic interactions in the rhizosphere.** Current Opinion in Plant Biology, v. 32, p. 62–68, 2016.

RESENDE, S. R. **Cultura do morango.** Emater, 6p. 2011.

RESENDE FILHO, *et al.* **Economic and productivity incentives to produce organically in Brazil: Evidence from strawberry production in the Federal District.** Renewable Agriculture and Food Systems, p.1–14, 2017.

RÍOS-RUIZ, W. F., *et al.* **Inoculation of bacterial consortium increases rice yield (*Oryza sativa* L.) reducing applications of nitrogen fertilizer in San Martin region, Peru.** Rhizosphere, v. 14, n. 100200, 2020.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. **Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion.** Biotechnol Adv., v. 17, n. 5, p. 319 – 339, 1999.

ROESCH, L. F. W., *et al.* **Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity.** ISME J, v. 1, n. 4, p. 283–290, 2007.

ROTARU, V. **Effects of Combined Application of *Bradyrhizobium japonicum* and *Pseudomonas Putida* on Nutrients and Water Contents of Soybean in Relation to Soil Moisture Regime**, “Agriculture for Life, Life for Agriculture” Conference Proceedings, v. 1, n. 1, p. 110-115, 2018.

RUBINSTEIN, J. **Fragaria x ananassa: Past, Present and Future Production of the Modern Strawberry**. Retrieved from the University of Minnesota Digital Conservancy. 2015. Disponível em: <https://conservancy.umn.edu/bitstream/handle/11299/175838/Jared%20Rubinstein%20-%20Strawberry.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em 22 jun. 2020.

SANDERSON, R. T. **Nitrogen**. Encyclopædia Britannica, inc. 2019. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/nitrogen> . Acesso em: 2 out. 2020.

SARWAR, M. *et al.* **Tryptophan-dependent biosynthesis of auxins in soil**. Plant and Soil, v. 147, n. 2, p. 207–215, 1992.

SAVINI, G. *et al.* **Strawberry plant relationship through the stolon**. Physiologia Plantarum, v. 134, n. 3, p. 421–429, 2008.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. **Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell**. Plant Physiology, v. 116, n. 2, p. 447–453, 1998.

SHARPLEY, A. N. **Soil phosphorus dynamics: agronomic and environmental impacts**. Ecological Engineering, v. 5, n. 3, p. 261–279, 1995.

SCHLOTTER, M. *et al.* **Microbial indicators for soil quality**. Biol Fertil Soils. v.54, p. 1–10, 2018.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. **The chemistry of soil organic nitrogen: a review**. Biology and Fertility of Soils, v. 26, n. 1, p. 1–15. 1997.

SCHWIETERMAN, M. L. *et al.* **Strawberry Flavor: Diverse Chemical Compositions, a Seasonal Influence, and Effects on Sensory Perception**, PLoS ONE, v. 9, n. 2. ed. 88446, 2014.

SEBRAE. **Agricultura orgânica: cenário brasileiro, tendências e expectativas**. Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-que-e-agricultura-organica,69d9438af1c92410VgnVCM100000b272010aRCRD> >. Acesso em: 2 jun. 2020.

SERÇE, S.; HANCOCK, J. F. **The temperature and photoperiod regularion of flowering and runnering in the strawberries, *Fragaria chiloensis*, *F. virginiana*, and *F. x ananassa***. Scientia Horticulturae, v. 103, p. 167-177, 2005.

**Setor de orgânicos fatura R\$ 4,6 bi em 2019; alta anual foi de 15%**. Revista Globo Rural. Fev. 2020a. Disponível em: <https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2020/02/setor-de-organicos-fatura-r-46-bi-em-2019-alta-anual-foi-de-15.html#:~:text=Balan%C3%A7o%20mostra%20que%20n%C3%BAmeros%20da%20exporta%C3%A7%C3%A3o%20tamb%C3%A9m%20foram%20bons&text=O%20setor%20de%20>

[produtos%20org%C3%A2nicos,chevou%20a%20R%24%204%20bilh%C3%B5es.>](#). Acesso em: set. 2020.

SHARMA, A. *et al.* **Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem**. SN Applied Sciences. v. 1, 1446p, 2019a.

SHARMA, R. M. *et al.* **Strawberries: production, postharvest management and protection**. Boca Raton - FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 113p., 2019b.

SIMS, J. T. *et al.* **Phosphate Fertilizers: Production, Characteristics, and Technologies**. Agronomy Monograph. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. v. 46, 2005.

SKONIESKI, F. R. *et al.* **Effect of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization rates on maize plant yield and silage quality**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 46, n. 9, p. 722-730, 2017.

SMITHSON, P. **Special issue on phosphorus availability, uptake and cycling in tropical agroforestry**. Agroforestry Forum, v. 9, n. 4, p. 37–40, 1999.

SOLOVEICHIK, G. **Electrochemical synthesis of ammonia as a potential alternative to the Haber–Bosch process**. Nature Catalysis, v. 2, n. 5, p. 377–380, 2019.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J. **Auxin and Plant-Microbe Interactions**. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, v. 3, n. 4, p. a001438–a001438, 2010.

SRIVASTAVA, P. K. *et al.* **Pesticides in Crop Production**. 1. ed. Hoboken -NJ. John Wiley & Sons, Inc., p. 55-63, 2020.

STEFFEN, W. *et al.* **Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet**. Science, v. 347, n. 6223, p. 1259855–1259855, 2015.

SU, Y. *et al.* **Phytohormonal quantification based on biological principles**. Hormone Metabolism and Signaling in Plants, p. 431–470, 2017.

SUSILOWATI, D. N. *et al.* **Indole-3-acetic acid producing bacteria and its application on the growth of rice**. Conf. Proc, p. 020016-1–020016-9, 2018.

SVENSSON, B. **The importance of honeybee-pollination for the quality and quantity of strawberries (*Fragaria x ananassa*) in central sweden**. Acta Horticulturae, v. 288, p. 260–264, 1991.

TACO, **Tabela brasileira de composição de alimentos/NEPA – UNICAMP – 4. ed. rev.e ampl.** Campinas: NEPA.p. 161p., 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 819 p., 2009.

TAKEDA, F.; GLENN, D. M.; STUTTE, G. **Flower bud formation in short-day strawberry cultivar under non-photo inductive conditions**. Acta Horticulturae, v. 842. p. 761 – 764, 2008.

TODESCHINI, V. *et al.* **Impact of Beneficial Microorganisms on Strawberry Growth, Fruit Production, Nutritional Quality, and Volatilome.** *Frontiers in Plant Science*, v. 9, 2018.

Tridge. **Global Production of Strawberry.** 2020. Disponível em: <<https://www.tridge.com/products/stawberry/production>> Acesso em: 17 de set. 2020.

TYC, O. *et al.* **The Ecological Role of Volatile and Soluble Secondary Metabolites Produced by Soil Bacteria.** *Trends in Microbiology*, v. 25 n. 4, p.280–292, 2017.

UENO, B. **Mulching protege o solo e o morango.** *Campo e Negócios Hortifrúti*, p. 60-61. 2014.

VESSEY, J. K. **Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers,** *Plant Soil*, v. 255, p. 571-586, 2003.

VIDAL, H. R.; SANTOS, M, J. **Variedades de morango para cultivo no verão.** *Campo & Negócios Hortifruti*, p. 66 – 68, 2017.

WAGG, C. *et al.* **Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 111, n. 14, p. 5266–5270, 2014.

WAN, W. *et al.* **Isolation and Characterization of Phosphorus Solubilizing Bacteria With Multiple Phosphorus Sources Utilizing Capability and Their Potential for Lead Immobilization in Soil.** *Frontiers in Microbiology*, v. 11, 2020.

WANG, J., *et al.* **Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application.** *BMC Microbiology*, v. 20, n. 1, 2020.

WENT, F. **Auxin, the plant growth-hormone *Avena sativa*.** *Bot. Rev.*, v. 1, p. 162–182, 1935.

YI, Y.; HUANG, W.; GE, Y. **Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate.** *World J Microbiol Biotechnol*, v. 24, n. 7, p. 1059 – 1065, 2008.

ZAHEER, A. *et al.* **Association of plant growth-promoting *Serratia* spp. with the root nodules of chickpea.** *Research in Microbiology*, v.167, n.6, p.510-520, 2016.

ZAYADAN, B. K. *et al.* **Promising microbial consortia for producing biofertilizers for rice fields.** *Microbiology*, v. 83, n. 4, p. 391–397, 2014.

ZEIST, A. R.; RESENDE, J. T. **Strawberry breeding in Brazil: current momentum and perspectives.** *Horticultura Brasileira*, v.37, n. 1, p. 7-16, 2019.

ZHANG, P. *et al.* **The Distribution of Tryptophan-Dependent Indole-3-Acetic Acid Synthesis Pathways in Bacteria Unraveled by Large-Scale Genomic Analysis.** *Molecules*, v. 24, n. 7, 1411 p., 2019.

ZHANG, W. **Global pesticide use: profile, trend, cost/benefit and more.** *Proc Int Acad Ecol Environ Sci.*, v. 8, n. 1, p. 1–27, 2018.

## PARTE 2: ARTIGO

# CONSÓRCIO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA CULTURA DO MORANGUEIRO

## RESUMO

O objetivo deste estudo é avaliar a capacidade de promoção de crescimento de bactérias selecionadas, e após as inocular em diferentes combinações em mudas de morango avaliando seus efeitos benéficos. Também é pretendido analisar a contribuição das bactérias para a redução do requerimento total de adubação no morangueiro. Os microrganismos utilizados neste estudo foram *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium* e *Brevibacillus* sp. Foram realizados testes *in vitro* para evidenciar o fornecimento de nutrientes (N, P, K e Ca), sideróforos e ácido indol- acético (IAA). O experimento foi realizado em casa de vegetação em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com a inoculação das bactérias em mudas de morango de forma isolada, em pares e tripla, onde também foi feita a adubação com 30% de N e P. Os controles foram plantas não inoculadas adubadas com 100% e 30% da demanda de N e P. Ao final do experimento (138 dias) foram realizadas pesagens e medidas a respeito do comprimento, matéria fresca e seca das raízes, parte aérea e do total das mudas. Foi visto que os microrganismos apresentaram resultados positivos em todos os aspectos analisados para a disponibilização de nutrientes e síntese de IAA, entretanto não foi constatada a produção de sideróforos. Os resultados apontaram que os morangueiros responderam de maneira positiva à inoculação. De modo geral, a maioria dos tratamentos obteve rendimentos superiores ao controle adubado à 30% sem inoculação e semelhantes ao controle não inoculado com 100% de adubação. Foi visto que os inóculos proporcionaram o desenvolvimento da coroa, crescimento radicular e acúmulo da biomassa. Desta maneira, o intermédio dos microrganismos permite a redução na demanda da adubação para o morangueiro em até 70% do total, pois sua utilização conduz o desenvolvimento da planta em rendimentos equiparáveis a adubação completa.

**Palavras-chave:** Agricultura Sustentável. Consórcio Microbiano. Screening Metabólico. Interação Planta x Microrganismo.

## 1 INTRODUÇÃO

As bactérias são microrganismos capazes de interagir com plantas de maneira benéfica. Isso ocorre devido diversos mecanismos que conferem a elas capacidade de disponibilizar nutrientes fundamentais para os vegetais (ALEXANDER e ZUBERER, 1991), como a fixação do nitrogênio (FRANCHE et al., 2009), solubilização de fosfatos inorgânicos (BILLAH et al., 2019), síntese hormônios vegetais (ASGHAR et al. 2002) entre outros mecanismos. Devido a este fato, essas bactérias são conhecidas como promotoras de crescimento em vegetais e vem sendo exploradas biotecnologicamente.

Atualmente o modelo agrícola se apresenta muito dependente da utilização de insumos químicos, os quais muitas vezes não são corretamente aplicados. Isso acarreta danos ao meio ambiente devido a exploração não sustentável das fontes de nutrientes, como por exemplo, os depósitos de rochas fosfatadas (WALAN et al., 2014; VACCARI et al., 2019). Assim como, por processos de lixiviação e eutrofização causando um desbalanço das condições favoráveis do meio (SHARPLEY, 1995). Também ocorrem prejuízos econômicos ao produtor, pois em muitos casos é necessária uma alta dosagem de fertilizantes para que uma pequena fração seja aproveitada pelas plantas (PIGNATI, 2018; SRIVASTAVA et al, 2020).

A agricultura é uma atividade fundamental para o desenvolvimento humano, e existe uma tendência global na expansão de áreas cultivadas. Um exemplo disso é a cultura do morango, onde no Brasil a produção ultrapassou 100 mil toneladas, sendo os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul os maiores contribuintes (FAGHERAZZI et al., 2017). Segundo Resende Filho e colaboradores (2017) em 2016 a área beneficiada pela cultura de morango foi de 4300 hectares.

O uso de microrganismos como inoculantes, de forma isolada ou em consórcios vem sendo bastante explorado em muitas culturas (BRADÁČOVÁ et al., 2019; RÍOS-RUIZ et al., 2020; WANG et al., 2020). Bactérias como *Azospirillum brasilense* tem sido componentes de formulações de produtos e alvo de estudos, principalmente por ser um microrganismo diazotrófico capaz de fixar nitrogênio (LOVAISA et al., 2016; ANDRADE, 2019). O gênero *Bacillus* também demonstra capacidades interessantes na solubilização de fosfatos e produção de outros metabólitos (NANDISH, 2018; OLANREWAJU e BABALOLA, 2019).

Além disso, a utilização de microrganismos promotores de crescimento como biofertilizantes contribui para a redução da demanda de aplicação dos insumos químicos (ALORI e BABALOLA, 2018). Estudos apontam que a inoculação de microrganismos

possibilita o crescimento de culturas mesmo com a redução da adubação nitrogenada em 25% (SANDINI et al., 2019), em 50% (ROMERO-PERDOMO et al., 2017), e de 50-75% da demanda conjunta de nitrogênio e fósforo (NOSHEEN et al., 2018) apresentando resultados que se equiparam com ao requerimento completo da adubação.

Sendo assim, a interação planta x microrganismos se faz uma alternativa ecologicamente viável para a produção agrícola. Sendo que, atualmente é inviável o estabelecimento de uma agricultura que não garanta a sustentabilidade dos recursos para as gerações futuras (MENDES et al., 2013; GOMES et al., 2016).

Este estudo foi realizado com as bactérias *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium* e *Brevibacillus* sp., e teve como objetivo averiguar a capacidade biofertilizante delas na disponibilização de nutrientes (N, P, K, Ca), produção de sideróforos e na síntese de ácido indol-acético. Além disso, essas bactérias foram inoculadas isoladas ou em combinações em mudas de morango com adubação reduzida de N e P, assim objetivando-se analisar o potencial de promoção de crescimento a partir de aspectos morfoanatômicos e deduzindo se o emprego delas possibilita a redução de parte do requerimento nutritivo.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Condições de cultivo dos isolados e padronização dos inóculos

Os microrganismos selecionados neste estudo são *Azospirillum brasilense* (Abv5) e *Bacillus megaterium* (CCMA 0004) da Coleção de Culturas da Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Lavras (CCMAUFLA, <http://www.ccma.dbi.ufla.br>), e o isolado *Brevibacillus* sp (MET12M2).

Para produção dos inóculos para realização dos testes, os isolados foram reativados em meio ágar-nutriente (3g/L<sup>-1</sup> de extrato de carne, 5g/L<sup>-1</sup> de peptona, 15g/L<sup>-1</sup> de ágar). Para realização dos testes *in vitro* foi utilizado o meio caldo nutriente (3g/L<sup>-1</sup> de extrato de carne, 5g/L<sup>-1</sup> de peptona). A temperatura de incubação foi de 30° C, o pH ajustado a 6,8 com agitação dos recipientes de cultivo em shaker orbital em 120 rpm.

Nos testes *in vitro* todos isolados foram submetidos a cultivo em meio de cultura líquido constituindo um pré-inóculo. Desta maneira, após 12 horas de cultivo as culturas tiveram sua densidade óptica padronizada em espectrofotômetro no comprimento de onda e 600 nm à um valor de 0.5 equivalente a 1x10<sup>8</sup> UFC/ml na escala de McFarland.

A partir destes inóculos, contendo um número de unidades formadoras de colônia aproximado, foram coletadas alíquotas para a realização dos testes bioquímicos.

## **2.2 Avaliação da interação entre as colônias**

Para avaliar os efeitos sinérgicos ou antagônicos entre as colônias foi realizado o co-cultivo dos microrganismos adaptando a metodologia proposta por Berendsen e seus colaboradores (2018). Foram extraídas alíquotas de 1µL da suspensão de células padronizadas, e sua inoculação foi realizada em meio de cultura ágar nutriente em 3 pontos diagonais, em uma cultura mista confrontando as estirpes em pares (Ab-v5 + CCMA 0004: **T1**, Ab-v5 + MET12M2: **T2**, CCMA 0004 + MET12M2: **T3**).

Desta maneira, a não compatibilidade entre os microrganismos durante seu crescimento foi averiguada pela visualização de halos inibitórios decorrentes da competição ou antibiose. As bactérias foram constatadas como sinérgicas caso este halo não estivesse presente.

## **2.3 Perfil metabólico das bactérias promotoras de crescimento**

### **2.3.1 Fixação biológica de nitrogênio**

A fixação biológica de nitrogênio foi verificada conforme Patel e Panchal (2020) em meio de cultura ágar Ashby (0,10g/L de  $K_2HPO_4$ , 0,40g/L de  $KH_2PO_4$ , 0,20g/L de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,1g/L de NaCl, 0,01g/L de  $FeCl_3$ , 0,02 de  $NaMoO_4$ , 0,03g/L de  $MnSO_4$ , 20g/L de Sacarose e 15g/L de ágar, pH = 6,8 - 7). Para isso foi realizado o plaqueamento dos microrganismos em triplicatas. A proliferação celular em placa é um indicativo positivo de que os microrganismos assimilam o nitrogênio atmosférico para fomentar seu crescimento, visto que este meio não contém fontes de nitrogênio para beneficiar a desenvolvimento microbiano.

### 2.3.2 Solubilização de fosfato e cálcio

Como experimento para avaliar a capacidade dos isolados em solubilizar fosfato foi seguida a metodologia de Nautiyal (1999). Os isolados foram reativados a partir de seu cultivo em caldo nutriente e tiveram sua densidade óptica padronizada.

Para aferir a capacidade de solubilização de fosfato os isolados foram cultivados em meio de cultura NBRIP (10g/L<sup>-1</sup> de glicose, 5g/L<sup>-1</sup> de MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 5g/L<sup>-1</sup> de Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 0,25g/L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,2g/L<sup>-1</sup> de KCl, 0,1g/L<sup>-1</sup> de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 15g/L<sup>-1</sup> de ágar, pH= 6.8 - 7), em consequente foram inoculados 10µl da suspensão de células de cada isolado separadamente em 3 pontos equidistantes na placa de petri. Os tratamentos em triplicata (repetições) foram armazenados por 15 dias sob temperatura de 30° C.

Já para a solubilização de cálcio foi utilizado a metodologia de Paguay e Vasco (2013). Foi utilizado o meio de cultura Pikovskaya composto por 2,5g/L de Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 2,5g/L e CaCO<sub>3</sub>, 0,5g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,2g/L de NaCl, 0,1g/L de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,2g/L de KCl, 0,5g/L de MnSO<sub>4</sub>, 0,5g/L de Extrato de levedura, 10g/L de Glicose e 15g/L de ágar (pH = 6,8 - 7). O procedimento para a realização deste teste foi o mesmo citado anteriormente.

A capacidade em solubilizar fosfato e cálcio foi mensurada a partir da constatação do halo translúcido ao redor das colônias, sendo está uma evidência da solubilização de fosfato de tricálcio (Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) e de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>). A significância da degradação dos elementos foi mensurada com o do cálculo do índice de solubilização (IS) (BERRAQUERO et al., 1976; NAUTIYAL, 1999; CHAGAS JUNIOR et al., 2010).

$$IS = \frac{\text{Diâmetro da colônia} + \text{Diâmetro do Halo}}{\text{Diâmetro da colônia}}$$

### 2.3.3 Solubilização de Potássio

A capacidade em solubilizar potássio foi conferida de acordo com a metodologia de Sun e colaboradores (2020), com o meio Aleksandrov modificado. O meio utilizado foi composto de 5g/L de KNO<sub>3</sub>, 0,2g/L de KCl, 0,5g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1g/L de

MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,1g/L de MnSO<sub>4</sub>, 0,125g/L de púrpura de bromocresol, 10g/L de glicose, pH = 6.8 -7. A positividade do teste é conferida a partir da constatação do halo amarelo no meio de cultura resultante da alteração do pH indicada pelo púrpura de bromocresol.

### 2.3.4 Produção de Sideróforos

A produção de Sideróforos foi conferida a partir da metodologia de Louden et al. (2011) com modificações. Para isso foi utilizado o meio de cultura B-King seguindo o seguinte processo:

**Meio B-King:** 1,5g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,5 g/L de MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 15 ml/L de glicerol, 15g/L de ágar.

**Solução A (CAS):** 72,9 mg de HDTMA dissolvidos em 40ml de água destilada.

**Solução B:** 60,5 mg de sulfonato de cromo azulol, dissolvidos em 50ml de água destilada adicionados a uma solução de 0,0027g de FeCl<sub>3</sub> em 10 ml de HCl (10mM).

Para o preparo do meio de cultura as duas soluções foram misturadas e autoclavadas separadamente ao meio. Após a esterilização, o meio de cultura e as soluções foram misturadas em uma proporção de 9:1 respectivamente, sendo assim vertidos em placas de petri. A avaliação da produção de sideróforos foi realizada a partir da observação de halos amarelados no meio e cultura.

### 2.3.5 Alteração do pH

A alteração do pH foi mensurada seguindo Vincent (1975). Desta maneira foi utilizado o meio ELMABT (Extrato de Levedura Manitol, Ágar Azul de Bromotimol) composto por 1g/L de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,18g/L de MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0,2g/L de NaCl, 9g/L de manitol, 1,5g/L de extrato de levedura, 5ml de solução de azul de bromotimol e 15g/L de ágar, pH = 7. Este meio de cultura apresenta uma coloração esverdeada devido ao pH igual a 7, se o microrganismo cultivado causar uma acidificação do meio ele se tornará amarelado, caso ele alcalinize o meio ele apresentará tons azulados.

### **2.3.6 Síntese de Ácido Indol Acético (IAA)**

A partir o método colorimétrico de Salkowski (GORDON e WEBER, 1951; LOACES et al., 2011) foi avaliada a capacidade de síntese do ácido indol-acético entre os isolados O meio de cultura para este teste foi o caldo nutriente incrementado com triptofano (100µg/mL). Os isolados foram cultivados e tiveram sua densidade óptica padronizada. Após, uma alíquota de 250µl da suspensão de células foi inoculada sendo cada tratamento realizado em triplicata. Durante um período de 7 dias os isolados foram incubados em BOD à 30° C e logo após foram submetidos à centrifugação em 12000 rpm por 5 minutos.

A avaliação da produção do fitohormônio foi realizada a partir da mistura de 1ml do sobrenadante obtido com 2ml de reagente de Salkowski (1,875g de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, 150mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 35% e 100mL de água) onde novamente ocorreu seu armazenamento em BOD à 30°C por 15 minutos na ausência de luz. Posteriormente, em espectrofotômetro foi analisada a absorbância no comprimento de onda em 530 nm assim os resultados das auxinas sintetizadas comparadas aos valores para curva padrão de AIA nas concentrações de 5, 10, 12, 15, 18, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160 e 180 µg/mL. A coloração rosada das amostras é o indicativo positivo da presença de auxinas.

## **2.4 Inoculação microbiana e delineamento experimental**

O experimento foi realizado durante 4 meses (11/03/2021 – 29/07/2021) abrangendo todo o ciclo do morangueiro. Ele foi conduzido em casa de vegetação nos domínios do Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal e Lavras contando com a inoculação das estirpes testadas em mudas da cultivar de dia neutro Aromas provenientes da empresa Multiplanta, Andradadas - MG.

As mudas foram plantadas em substrato inerte contendo areia e vermiculita na proporção 1:1 (v:v). A esterilização do substrato foi realizada em autoclave na temperatura de 121°C por 1 hora, sendo este procedimento repetido 3 vezes com um intervalo de 24 horas. Antes da aplicação dos inóculos bacterianos as mudas foram aclimatadas no substrato por um período de 30 dias.

Os inóculos foram aplicados nos tratamentos nas quantidades expressas na **Tabela 1**. Eles foram reaplicados em intervalos de 15 dias garantindo a viabilidade dos microrganismos até o fim do experimento. A inoculação foi realizada conforme os métodos de cultivo e padronização dos microrganismos citados anteriormente. Sendo realizada a centrifugação do meio de cultivo para isolamentos das células, as quais foram resuspensas em tampão fósforo potássio (16,282g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,9g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH = 7.4) Os diferentes volumes da aplicação do inóculo foram adotados para uniformizar a concentração de células expressas em cada tratamento estabelecendo assim um volume máximo total de células inoculadas.

O cultivo das mudas foi realizado em vasos com volume de 5L. Sua irrigação ocorreu de forma regular a cada 2 dias. A cada 15 dias foram aplicados 10 ml da solução de Hoagland e Arnon (1950) sendo está um incremento nutritivo para o desenvolvimento vegetal, principalmente de micronutrientes uma vez que o substrato utilizado é inerte. Deste modo, duas formulações desta solução foram empregadas nos tratamentos, a solução completa foi utilizada no Controle 1 (sem inoculação com adubação completa) sendo composta por 2mL/L<sup>-1</sup> de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2mol/L, 5mL/L<sup>-1</sup> de  $\text{KNO}_3$  1mol/L, 10mL/L<sup>-1</sup> de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  1mol/L, 4mL/L<sup>-1</sup> de  $\text{MgSO}_4$  1mol/L, 2mL de solução de micronutrientes (2,86g/L<sup>-1</sup> de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 1,81g/L<sup>-1</sup> de  $\text{MnCl}_2$ , 0,22g/L<sup>-1</sup> de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,08 g/L<sup>-1</sup> de  $\text{NaMoO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) e 2mL de Fe-EDTA (24, 1g/L<sup>-1</sup> de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e 25,1g/L<sup>-1</sup> de EDTA).

O controle 2 (sem inoculação com adubação reduzida) e os demais tratamentos inoculados foram condicionados a aplicação da solução reduzida, a qual conta com a redução de nitrogênio e fósforo expressando 30% da demanda destes nutrientes quando comparada a solução anterior. Sendo assim, a formulação da solução reduzida de Hoagland e Arnon contou com 6ml/L KCl 1mol/L, 5ml/L de  $\text{CaCl}_2$  1mol/L, 0,3 ml/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1mol/L, 4,5 ml/L de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1mol/L, 2 ml/L de  $\text{MgSO}_4$  1mol/L, 1ml/L de solução de micronutrientes e 1ml/L de Fe-EDTA.

Também foi realizada a adição de fosfato natural reativo da Argélia com 29% de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e solubilidade igual a 2% em ácido cítrico em todos os tratamentos, sendo uma fonte de liberação lenta de fosfato dependente da atividade dos microrganismos. Desta maneira, uma fração correspondente a 350mg de P/dm<sup>3</sup> foi adicionada ao volume total dos vasos em todos os tratamentos correspondendo a 13,8 gramas de fosfato por vaso.

**Tabela 1:** Tratamentos experimentais utilizados

<b>Tratamento</b>	<b>Descrição da Adubação</b>	<b>Inóculo</b>	<b>Concentração do Inóculo</b>
Controle 1 (C1)	Adubação Completa (100% N e P)	Sem Inóculo	-
Controle 2 (C2)	Adubação Reduzida (30% N e P)	Sem Inóculo	-
Tratamento 1 (T1)	Adubação Reduzida (30% N e P)	Ab-v5	6ml ( $1 \times 10^8$ )
Tratamento 2 (T2)	Adubação Reduzida (30% N e P)	CCMA 0004	6ml ( $1 \times 10^8$ )
Tratamento 3 (T3)	Adubação Reduzida (30% N e P)	MET12M2	6ml ( $1 \times 10^8$ )
Tratamento 4 (T4)	Adubação Reduzida (30% N e P)	Ab-v5 + CCMA 0004	3ml ( $1 \times 10^8$ ) + 3ml ( $1 \times 10^8$ )
Tratamento 5 (T5)	Adubação Reduzida (30% N e P)	Ab-v5 + MET12M2	3ml ( $1 \times 10^8$ ) + 3ml ( $1 \times 10^8$ )
Tratamento 6 (T6)	Adubação Reduzida (30% N e P)	CCMA 0004 + MET12M2	3ml ( $1 \times 10^8$ ) + 3ml ( $1 \times 10^8$ )
Tratamento 7 (T7)	Adubação Reduzida (30% N e P)	Ab-v5 + CCMA 0004 + MET12M2	2ml ( $1 \times 10^8$ ) + 2ml ( $1 \times 10^8$ ) + 2ml ( $1 \times 10^8$ )

**Legenda:** Ab-v5: *Azospirillum brasilense*, CCMA 0004: *Bacillus megaterium*, MET12M2: *Brevibacillus* sp. A concentração do inóculo representa a concentração de células medidas por densidade óptica (0,5 à 600nm).

## 2.5 Avaliação dos caracteres morfológicos das plantas

A primeira avaliação morfológica realizada nos morangueiros foi a mensuração do diâmetro da coroa. Dois dias após a aplicação do primeiro inóculo bacteriano (13/03/2021) a distância entre as duas maiores folhas opostas foi medida com paquímetro digital. Quinze dias depois essa avaliação foi refeita, buscando analisar o aumento da extensão foliar.

A média do diâmetro da coroa dos tratamentos foram comparadas no dia 0 e dia 15 pelo teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ). Além disso, a partir do teste t de Student pareado ( $p \leq 0.01$ ) foi analisado se as medidas da coroa no dia 15 de cada tratamento eram maiores que sua média correspondente no dia 0.

Ademais, foi verificada a variação do crescimento proporcionada por cada tratamento em relação ao valor inicial da extensão da coroa entre as mudas. Sendo assim,

as medidas mensuradas de cada tratamento foram comparadas com as medidas gerais do diâmetro da coroa no dia 0 de todos os tratamentos a partir do teste de Dunnet ( $p \leq 0.05$ ).

Ao final do experimento com 138 dias de cultivo (29/07/2021) as mudas foram retiradas dos vasos para a avaliação do incremento total de biomassa propiciado pelos microrganismos. Foram contabilizados o número de folhas e o comprimento radicular (medido com paquímetro digital).

A área foliar também foi aferida. Para isso, foi realizada a coleta de 6 unidades experimentais de cada tratamento, a partir das quais a maior folha presente na planta foi amostrada sendo disposta a uma superfície plana para ser fotografada. A imagem gerada foi processada no software ImageJ v1.53, onde a área de cada folha foi mensurada em  $\text{cm}^2$ .

A matéria fresca total, da parte aérea e da raiz também foram aferidas em balança analítica. Esta pesagem foi realizada novamente para aferir a matéria seca destas variáveis, para isso as mudas foram condicionadas em estufa de circulação forçada na temperatura de  $60^\circ \text{C}$  até a estabilização de seu peso.

## **2.6 Delineamento experimental**

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Sendo os tratamentos dispostos em bancada de maneira aleatória. Foram adotados 9 tratamentos para o cultivo das mudas de morangueiro, sendo 2 deles controles e 7 inoculados com diferentes combinações bacterianas. Cada tratamento foi composto por 12 repetições com uma muda por vaso.

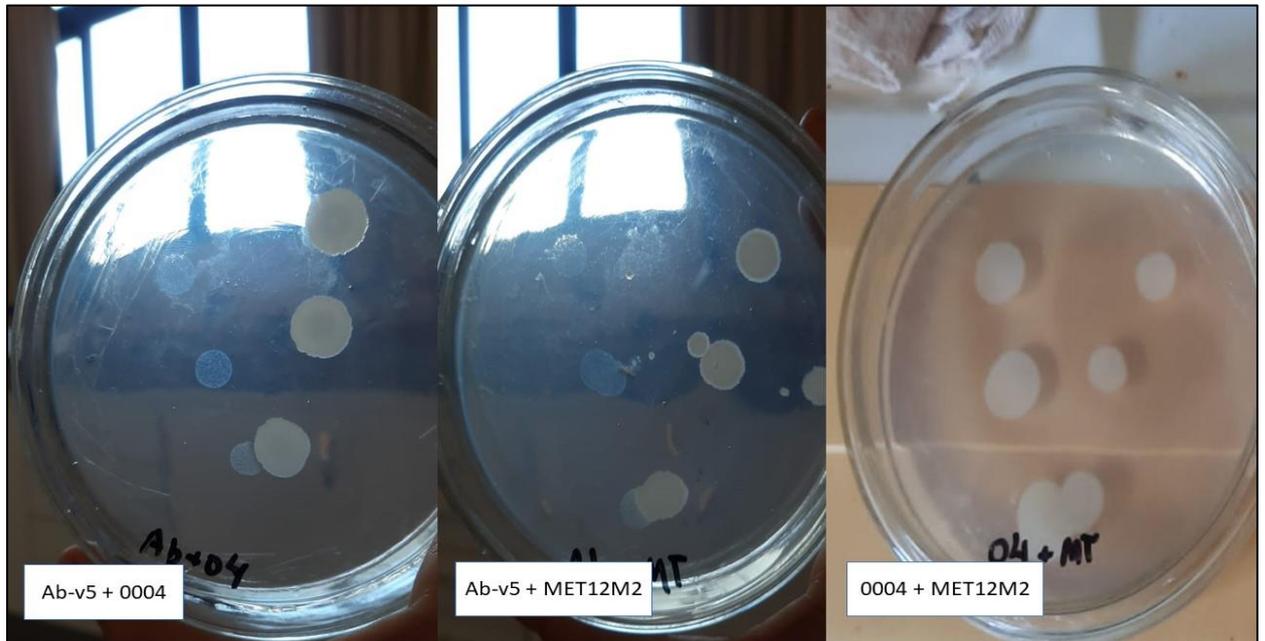
As inferências estatísticas foram realizadas no software RStudio. A normalidade e homogeneidade dos resíduos foram checadas, e foi realizada a análise de variância de uma via seguídas de testes de Duncan ( $p \leq 0.05$ ). Os gráficos foram plotados no software SigmaPlot 12.0.

## **3 RESULTADOS**

### **3.1 Interação entre as colônias**

A partir do co-cultivo microbiano foi possível constatar que as bactérias não apresentam efeitos antagônicos entre si, uma vez que não foram observados halos inibitórios nas regiões onde as colônias tem contato (Figura 1).

**Figura 1:** Sinergia entre as bactérias.



**Legenda:** Ab-v5: *Azospirillum brasilense*, 0004: *Bacillus megaterium*, MET12M2: *Brevibacillus* sp.

### 3.2 Screening Metabólico

De acordo com os resultados foi visto que os microrganismos apresentaram diversos mecanismos que estimulam o crescimento vegetal, conforme apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2:** Resultados dos testes *in vitro* para promoção de crescimento.

Bactéria	FBN	Sol. P (IS)	Sol. Ca (IS)	Sol. K	Sideróforos	pH	IAA ( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>Azospirillum brasilense</i>	+	16,67 $\pm$ 9,81a	9,67 $\pm$ 1,53b	+	-	Acidificou	13,08 $\pm$ 1,58a
<i>Bacillus megaterium</i>	+	14,33 $\pm$ 2,89a	19,33 $\pm$ 4,16a	+	-	Acidificou	11,64 $\pm$ 1,33ab
<i>Brevibacillus</i> sp.	+	15 $\pm$ 3a	22,33 $\pm$ 1,53a	+	-	Acidificou	10,77 $\pm$ 0,76b

**Legenda:** Os (+) e (-), indicam a positividade e negatividade aos testes respectivamente. **FBN:** Fixação Biológica de Nitrogênio. **Sol.:** Solubilização. **IAA:** (Ácido Indol Acético). O símbolo  $\pm$  indica o desvio padrão e as letras subjacentes aos números representam médias semelhantes de acordo com o teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

Foi possível constatar que todos os microrganismos foram capazes de crescer em meio na ausência de nitrogênio o que indica positivamente a capacidade de fixação do nutriente. As bactérias testadas apresentaram resultados positivos para a solubilização de fosfato, cálcio e potássio. Para o fosfato notou-se que o maior índice de solubilização foi de Ab-v5, entretanto todas as bactérias não se diferenciaram em rendimento de acordo com o teste estatístico ( $p \leq 0.05$ ). Para a solubilização de cálcio foi observada uma diferença estatística ( $p \leq 0.05$ ) no índice de solubilização apresentado pelas bactérias, onde, *B. megaterium* e *Brevibacillus* sp. se diferiram estatisticamente de *A. brasilense* apresentando um rendimento maior.

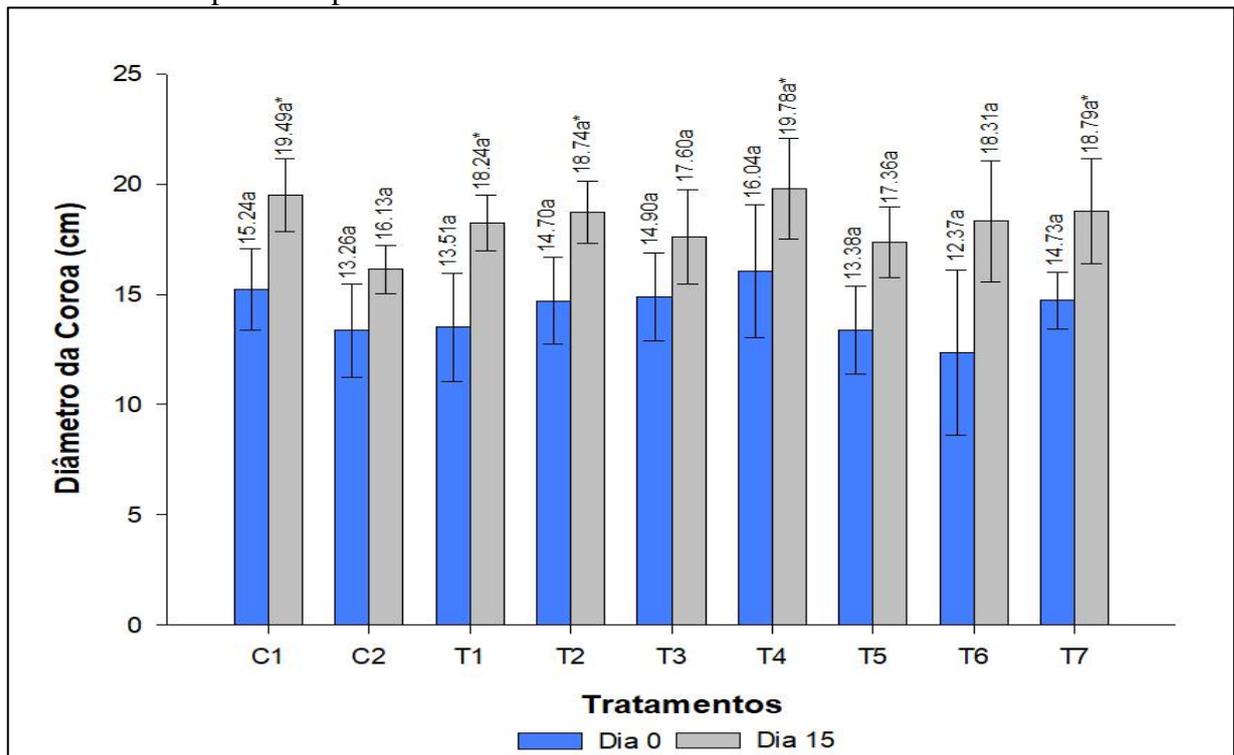
Do mesmo modo todas as estirpes foram capazes de solubilizar o potássio presente no meio, originando um halo amarelo no meio de cultura. Não foi possível observar neste estudo a produção de sideróforos pelos microrganismos utilizados. Todavia, o crescimento microbiano de todas as estirpes proporcionou a acidificação do meio de cultura.

Como observado na Tabela 2 os microrganismos foram capazes de sintetizar o ácido indol-acético, onde *A. brasilense* apresentou o maior rendimento se diferenciando estatisticamente das demais bactérias.

### 3.3 Mensuração do Diâmetro da Coroa

Os resultados da avaliação realizada para verificar a promoção de crescimento proporcionada pelos microrganismos no morangueiro pode ser conferido na Figura 2.

**Figura 2:** Medidas do diâmetro da coroa entre os tratamentos. Os números acima das linhas de desvio padrão representam a média do diâmetro.



**Legenda:** As médias seguidas por letras semelhantes não diferem significativamente de acordo com o teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ). As médias dos tratamentos no Dia 15 seguidas de asteriscos (\*) se diferem estatisticamente das médias do Dia 0 correspondentes de acordo com o teste t de Student pareado ( $p \leq 0.01$ ).

Estatisticamente não foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos no dia 0 e posteriormente no dia 15. Desta maneira, é possível inferir que no início do experimento as mudas possuíam diâmetros foliares similares e que esta proporção se manteve igual até o 15º dia de cultivo acompanhando o desenvolvimento da planta.

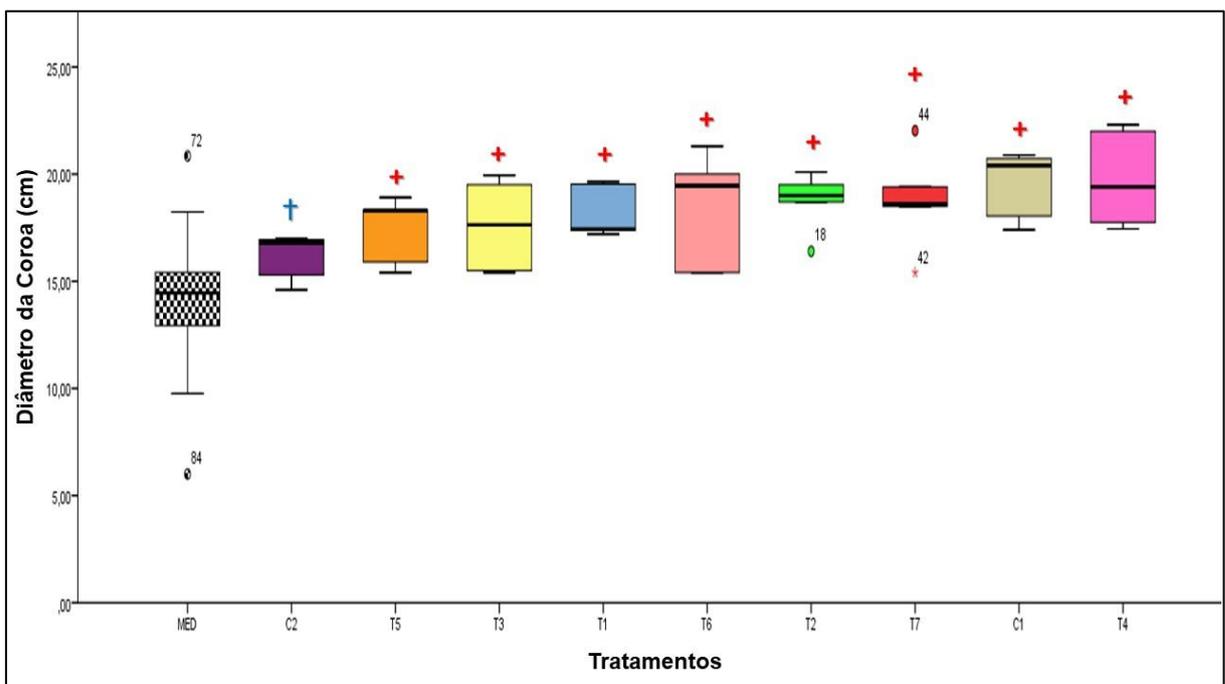
Além disso, é possível notar que individualmente para cada tratamento houve uma resposta relativa no crescimento do morangueiro. Sendo que, em relação ao dia 0, as plantas dos tratamentos C1, T1, T2, T4 e T7 apresentaram médias significativamente maiores no dia 15.

Os tratamentos inoculados que mais contribuíram no crescimento da coroa foram: T6 com 5,94 centímetros, T1 com 4,72 centímetros e T7 com 4,06 centímetros. O Controle 1 foi responsável pela maior variação de crescimento com o incremento de 4,25 centímetros. Já o C2 foi responsável em incrementar 2,87 centímetros no diâmetro

da coroa. O efeito da inoculação de bactérias nos tratamentos 1, 2, 4, 5, 6 e 7 foram maiores no crescimento do diâmetro da coroa quando comparados ao C2. Contudo, mesmo estas variações de crescimento sendo distintas elas estatisticamente são consideradas iguais.

Adicionalmente, a Figura 3 apresenta a comparação da extensão do diâmetro da coroa dos morangueiros em relação aos valores das mudas no início da avaliação. A média de todos os tratamentos no dia 0 foi de 14,3 centímetros e o agrupamento MED presente na figura representa esse conjunto de dados. De acordo com o teste de Dunnet ( $p \leq 0.05$ ), todos os tratamentos com exceção do C2 apresentaram valores médios maiores que o agrupamento MED, sendo assim possível inferir que apenas este controle não proporcionou um aumento significativo no crescimento foliar na primeira quinzena de avaliação.

**Figura 3:** Comparativo da medida do diâmetro da coroa entre os tratamentos no dia 15 com a medida geral dos tratamentos no dia 0.



**Legenda:** MED: Agrupamento com as medidas de todos os tratamentos no dia 0. De acordo com o teste de Dunnet ( $p \leq 0.05$ ), o caractere mais (+) acima das caixas representa os tratamentos que são maiores estatisticamente que o agrupamento MED, o caractere mais (†) acima das caixas representa os tratamentos que não se diferem do agrupamento MED. Dados apresentados em ordem crescente.

### 3.4 Número de folhas e área foliar

Os resultados obtidos na análise do número de folhas e da extensão da área foliar estão representados na Tabela 3 e Figura 5.

**Tabela 3:** Número de folhas entre os tratamentos

Tratamento	Número de Folhas
Controle 1	5,33 ± 0,52a
Controle 2	5,83 ± 1,47a
Tratamento 1	4,67 ± 0,52a
Tratamento 2	6,67 ± 1,51a
Tratamento 3	5,33 ± 0,52a
Tratamento 4	5,33 ± 1,03a
Tratamento 5	5,50 ± 1,87a
Tratamento 6	5,00 ± 1,10a
Tratamento 7	5,00 ± 0,63a

**Legenda:** Média do número de folhas. O símbolo  $\pm$  indica o desvio padrão e as letras subjacentes aos números representam médias semelhantes de acordo com o teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

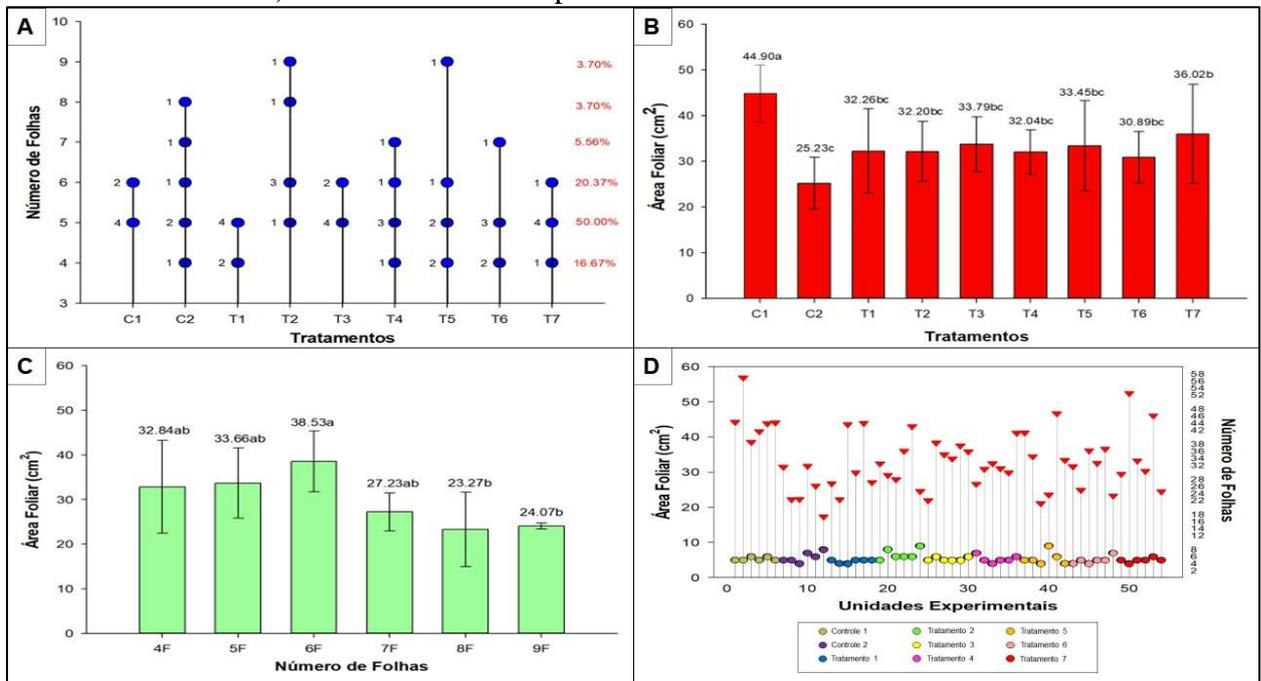
De acordo com o gráfico A da Fig. 5, é possível observar que existiu uma grande variabilidade no número de folhas entre os tratamentos. O número mínimo observado foi de quatro folhas e o máximo nove. O controle 2 apresentou mudas com quantidades de folhas mais heterogêneas em relação aos outros tratamentos.

Quanto a área foliar (Fig. 5, B) nota-se que o controle 1 apresentou a maior medida, sendo 77,23% maior que o controle 2 com menores valores. Dos tratamentos inoculados o Tratamento 7 proporcionou um aumento de 42,77% em comparação ao controle 2, sendo menor 24,65% ao controle 1. Os demais tratamentos inoculados apresentaram médias equivalentes, porém menores ao controle 1.

Além disso, a proporção entre o número de folhas e a área foliar (Fig. 5, C) indica que as plantas que contém seis folhas apresentaram áreas foliares maiores, sendo em média maiores 55,99% que as plantas com nove folhas e 65,58% maiores que as com oito folhas.

Ademais, é possível observar que existiu uma grande uniformidade no número de folhas (Tab. 3; Fig. 5, A; Fig. 5, D), onde a sua média não se diferiu estatisticamente entre os tratamentos e a maioria das amostras (50%) apresentaram um total de cinco folhas. Ao mesmo tempo, a variabilidade da área foliar é muito heterogênea entre os dados, sendo assim não existiu uma correlação entre esta medida e a quantidade de folhas das mudas (Fig. 5, D).

**Figura 5:** Medidas foliares dos morangueiros. (A) Números de folhas entre os tratamentos, valores ao lado das barras representam a quantidade de amostras do tratamento que apresentam o determinado número de folhas. Os valores de porcentagem expressam a proporção do número de folhas entre todas as observações. (B) Área foliar entre os tratamentos. (C) Área foliar em relação ao número de folhas por planta. (D) Proporção entre a área foliar (Triângulos vermelhos,) e número de folhas (Círculos coloridos) entre as unidades experimentais.



**Legenda:** Os números acima das linhas de desvio padrão representam as médias das medidas. Valores seguidos por letras semelhantes não diferem significativamente de acordo com o teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

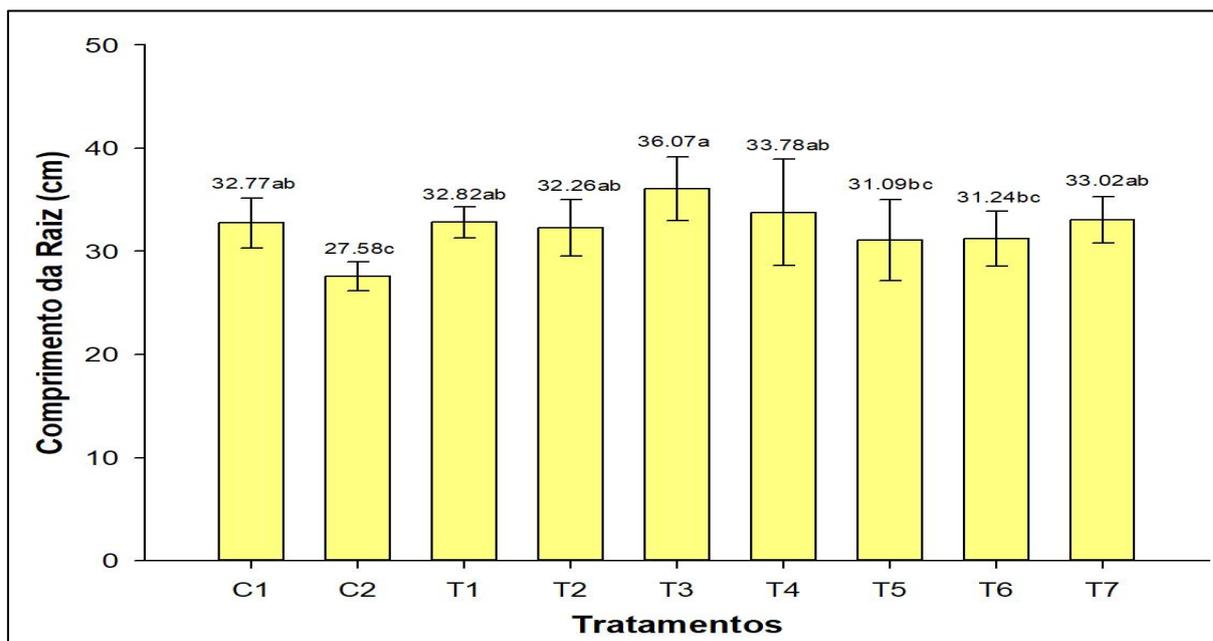
### 3.5 Comprimento da Raiz

O comprimento da raiz foi beneficiado pela inoculação dos microrganismos. Os resultados podem ser conferidos na Figura 6.

Os resultados obtidos apontam que o tratamento 3 proporcionou o maior crescimento radicular em relação aos outros tratamentos, sendo maior 10,07% que o controle 1, e 30,78% que o controle 2.

Da mesma maneira os tratamentos 1, 2, 4 e 7 proporcionaram o crescimento a raiz maiores que o controle 2 e equivalentes ao controle 1.

**Figura 6:** Comprimento radicular dos morangueiros entre os tratamentos.



**Legenda:** Os números acima das linhas de desvio padrão representam as médias das medidas. Valores seguidos por letras semelhantes não diferem significativamente de acordo com o teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

### 3.6 Peso fresco e seco

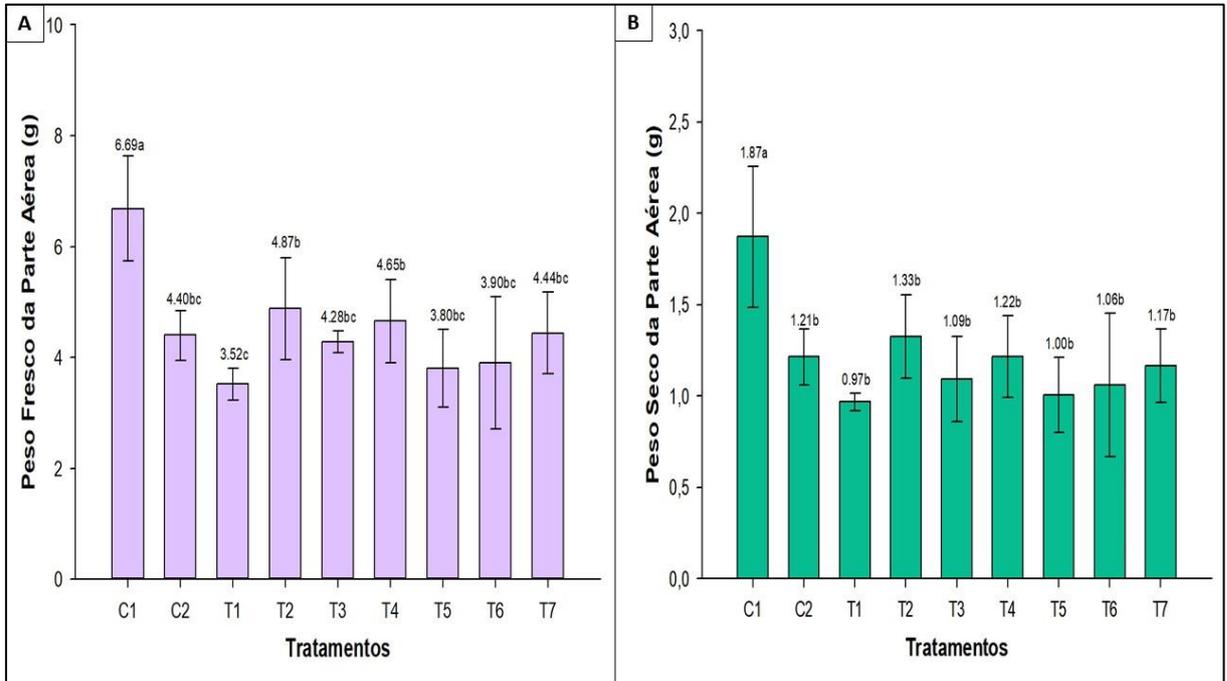
#### 3.6.1 Parte Aérea

O aumento do peso da parte aérea está representado nos gráficos da Figura 7. É possível observar que o controle 1 proporcionou o maior acúmulo de matéria fresca e seca. Nestas duas aferências também foi observado que o tratamento 1 foi o que menos beneficiou o incremento de peso em relação aos outros tratamentos.

Além disso, os valores obtidos para o peso fresco (Fig. 7, A) evidenciam que todos os tratamentos em exceção ao 1 apresentaram medidas equivalentes ao controle 2 e inferiores ao 1, sendo que os tratamentos 2 e 4 foram maiores ao tratamento 1, 38,35% e 32,10% respectivamente.

Já em relação ao peso seco (Fig. 7, B) é observado que os tratamentos inoculados e o controle 2 apresentaram médias estatisticamente equivalentes, sendo todos inferiores ao controle 1.

**Figura 7:** Pesagem da parte aérea dos morangueiros entre os tratamentos. (A) Peso fresco, (B) Peso seco.

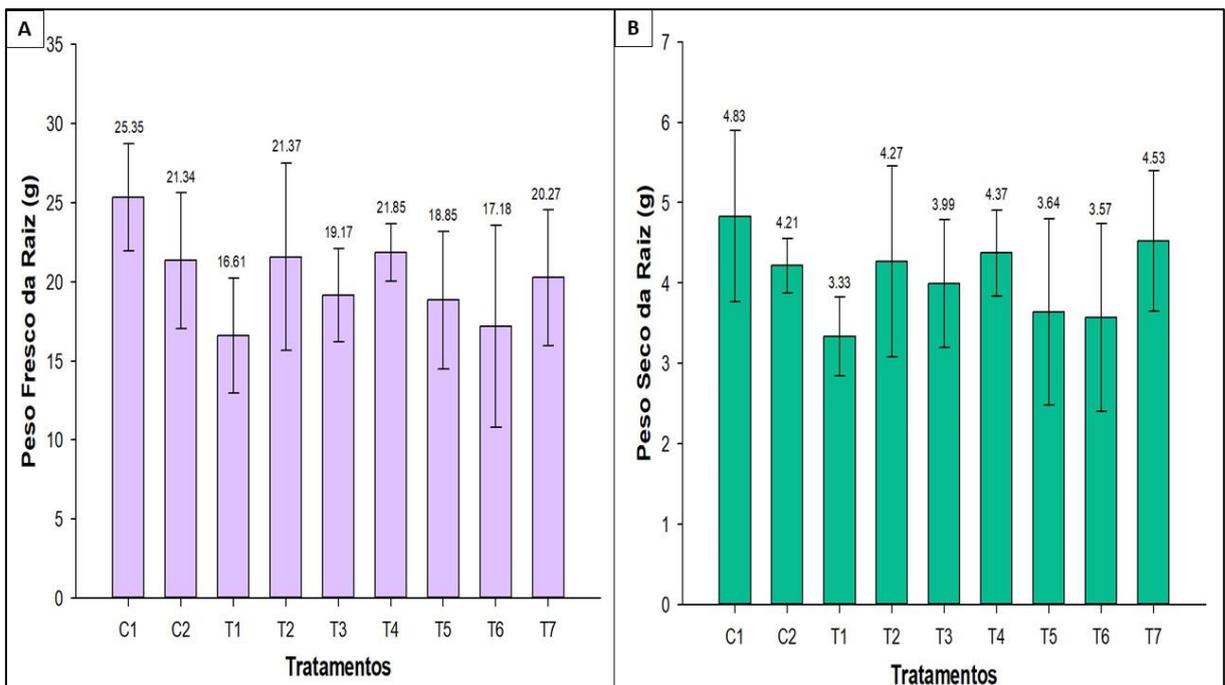


**Legenda:** Os números acima das linhas de desvio padrão representam as médias das medidas. Valores seguidos por letras semelhantes não diferem significativamente de acordo com o teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

### 3.6.2 Raiz

As pesagens em fresco e seca das raízes estão representadas na figura 8. De modo geral não foram constatadas diferenças estatisticamente significativas para a matéria fresca (Fig. 8, A) e seca da raiz (Fig. 8, B).

**Figura 8:** Pesagem da raiz dos morangueiros entre os tratamentos. (A) Peso fresco, (B) Peso seco.



**Legenda:** Os números acima das linhas de desvio padrão representam as médias das medidas. Não houveram diferenças estatisticamente significativas de acordo com o teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

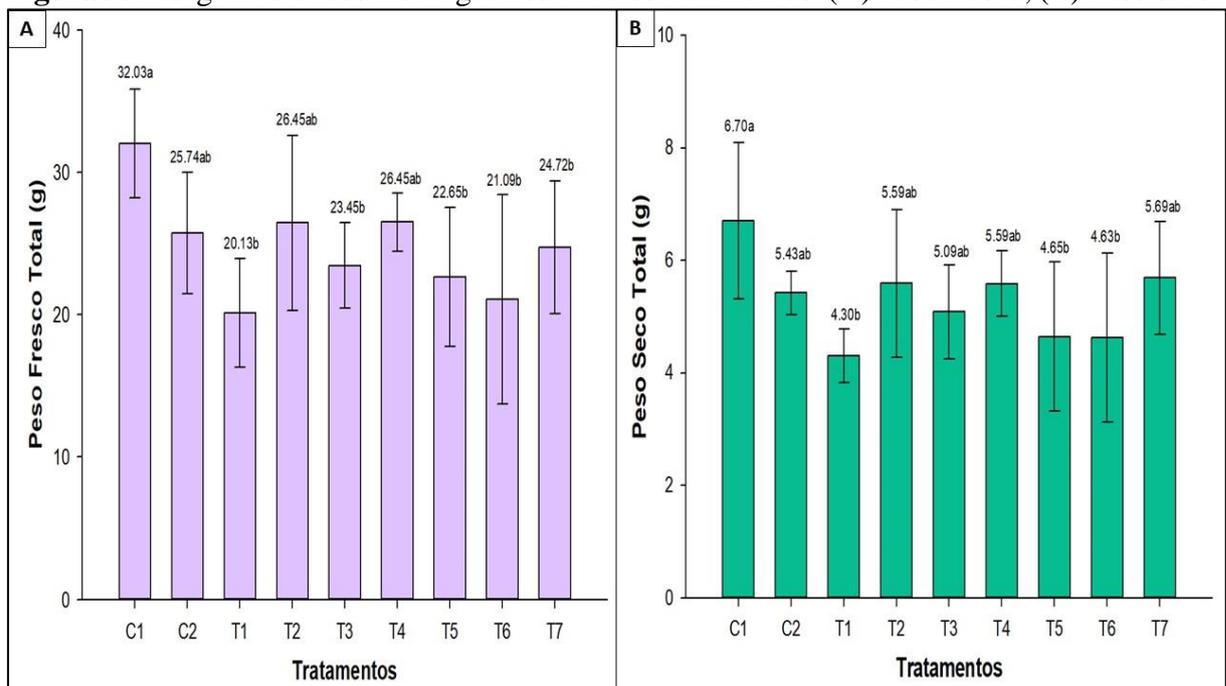
### 3.6.3 Peso Total

Os dados sobre peso total dos morangueiros podem ser conferidos na figura 9. Em geral tanto a matéria fresca e seca foram maiores nas mudas do controle 1 adubadas 100% com nitrogênio e fósforo. Novamente o tratamento 1 foi o que menos contribuiu para o acúmulo da matéria total das plantas.

Para o peso fresco (Fig. 9, A) é visto que os tratamentos 2 e 4, e o controle 2 apresentaram médias semelhantes ao controle 1. Os outros tratamentos se assemelharam com os citados anteriormente, contudo se diferiram do controle 1.

No peso seco (Fig. 9, B) é notado que os tratamentos 2, 3, 4 e 7, e o controle 2 tiveram pesos semelhantes ao controle 1. Entretanto, os tratamentos 1, 5 e 6 se diferiram estatisticamente do controle 1 resultando em médias inferiores.

**Figura 9:** Pesagem total dos morangueiros entre os tratamentos. (A) Peso fresco, (B) Peso seco.



**Legenda:** Os números acima das linhas de desvio padrão representam as médias das medidas. Valores seguidos por letras semelhantes não diferem significativamente de acordo com o teste de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

### 3.7 Morfologia do Crescimento das Mudas

Como é possível observar na Figura 10, os tratamentos em geral apresentaram diferenças visuais quanto ao comprimento total das mudas, onde alguns apresentaram um menor desenvolvimento da parte aérea, enquanto outros proporcionaram um maior desenvolvimento radicular. Da mesma forma, é importante ressaltar que o desenvolvimento radicular foi de certa forma diferente nos tratamentos, onde por exemplo no controle 2 foram observadas raízes primárias proeminentes.

**Figura 10:** Comparação entre as plantas submetidas aos tratamentos.



**Legenda:** **Ab-v5:** *Azospirillum brasilense*; **0004:** *Bacillus megaterium*; **MET12M2:** *Brevibacillus* sp.  
**C1:** Controle sem Inoculação + Adubação 100% de N e P; **C2:** Controle sem Inoculação + Adubação 30% de N e P; **T1:** Ab-v5, **T2:**0004; **T3:** MET12M2; **T4:** Ab-v5 + 0004; **T5:** Ab-v5-MET12M2; **T6:** 0004 + MET12M2 **T7:** Ab-v5 + 0004 + MET12M2.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Aspectos promotores de crescimento dos microrganismos

Como observado nos resultados as bactérias utilizadas foram capazes de disponibilizar nutrientes fundamentais para o crescimento vegetal. A fixação biológica de nitrogênio é frequentemente descrita para as bactérias utilizadas neste estudo. *A. brasilense* tem sido utilizada como inoculante em muitos estudos (BRITO et al., 2018; CONIGLIO et. al. 2019; GALINDO et al., 2021) sendo inclusive componente de diversos produtos comerciais. Yosuf e colaboradores (2017) demonstraram a capacidade de *B. megaterium* neste quesito, onde ao ser comparada a diversas estirpes de bacilos obteve o maior rendimento sintético com  $210.05 \pm 7.0$  nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/mg proteína/dia de acordo com o teste para redução do acetileno. Em consonância aos resultados existem estudos que identificam a capacidade de fixação de nitrogênio no gênero *Brevibacillus*. O trabalho de Nhera et al. (2016) por exemplo, demonstrou a capacidade de *Brevibacillus brevis* em reduzir o acetileno com rendimento de 10.25 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/mg proteína/h.

A literatura indica casos onde os microrganismos utilizados neste trabalho também apresentam a capacidade de solubilizar fosfato. O estudo de Toffoli e colaboradores (2021) evidenciaram a capacidade de diversas estirpes de *Azospirillum* em solubilizar fosfato em meio NBRIP. *B. megaterium* é amplamente notificado como solubilizador, o trabalho de Kang e colaboradores (2014) reportou que o halo de solubilização do microrganismo no meio NBRIP pode ser maior que 6 milímetros quando cultivado por 96 horas. Já o estudo de Yadav et al. (2013) demonstrou a capacidade de uma bactéria do gênero *Brevibacillus* em solubilizar 223.1 miligramas de fosfato tricálcico por litro.

A solubilização de cálcio por outras bactérias também foi notificada em outros estudos. Tamilselvi e colaboradores (2016), isolaram diversas bactérias capazes de dissolver o nutriente a partir de solos sódicos calcáricos, entre elas estava presente uma estirpe de *Brevibacterium* que foi capaz de liberar 18.6% da calcita natural liberando 3,6 g/L de  $\text{Ca}^{2+}$ . Da mesma forma Rana et. al (2015) reportou esta mesma capacidade para *Pseudomonas*, *Enterobacter* e *Bacillus subtilis*.

Sideróforos são moléculas de baixo peso molecular capazes de agir como quelantes auxiliando no sequestro de ferro nos solos (FERREIRA et. al., 2019). Resultados diferentes foram observados em outros experimentos onde foi constatada a capacidade das bactérias utilizadas neste estudo em produzir sideróforos (TORTORA et al., 2011; SANTOS et al. 2013; SHENG et al, 2013). Além disso, Liu e colaboradores (2017) trabalharam com as bactérias *Paenibacillus illinoisensis* e *Bacillus* sp. que foram capazes de produzir sideróforos as inoculando em amendoim (*Arachis hypogaea*) cultivado em solos calcáricos. As bactérias possibilitaram a absorção de ferro do solo aumentando o conteúdo do nutriente nas folhas, além de promover um grande desenvolvimento nas plantas com a obtenção de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio.

Adicionalmente é importante ressaltar como as características do crescimento dos microrganismos em meio de cultura estão relacionadas à solubilização de nutrientes. Foi observado que todas as bactérias foram capazes de acidificar o meio e cultura durante seu crescimento e isso é um indicativo da produção de ácidos orgânicos, moléculas responsáveis por auxiliar na liberação de fósforo, cálcio e potássio de fontes não disponíveis à assimilação de plantas (MACIAS-BENITEZ et al., 2020).

Em geral, é muito importante para a agricultura o acoplamento de muitos mecanismos promotores de crescimento de vegetais em microrganismos componentes de inoculantes biológicos. Diversos estudos indicam que a inoculação de microrganismos em combinações promove melhores benefícios a planta (OLUWAMBE et al., 2016; BRADÁČOVÁ et al., 2019; HASHMI et al., 2019). Além disso, estes mecanismos e as co-inoculações realizadas explicam o comportamento do crescimento das mudas, por exemplo a produção de IAA.

Este hormônio vegetal é responsável pela divisão, alongação e alargamento celular, sendo extremamente responsável pelo desenvolvimento radicular (SULIASIH e WIDAWATI, 2020). Contudo, a síntese desta auxina é dependente da quantidade de triptofano no ambiente, sendo assim a própria planta é responsável por regular a síntese deste fitohormônio pelas bactérias uma vez que elas conseguem exsudar este aminoácido pelas raízes (ARKHIPCHENKO et al. 2006).

## **4.2 Avaliação da Promoção de Crescimento**

Como observado, os microrganismos proporcionaram uma diferenciação no crescimento da parte aérea, beneficiando o crescimento inicial do diâmetro da coroa nos primeiros 15 dias de avaliação. O que reforça este resultado é a comparação significativa do crescimento da coroa em relação à média de todas as mudas no dia 0, onde o controle 2 não apresentou uma variação expressiva. Resultados semelhantes foram encontrados por Andrade et al. 2019. Nesta pesquisa os autores descreveram um efeito positivo da inoculação de microrganismos no desenvolvimento do morangueiro, onde a sua inoculação contribui para o aumento do diâmetro da coroa das plantas. Por exemplo, *Azospirillum brasilense* possibilitou o aumento desta extensão em aproximadamente 30 centímetros em um intervalo de 80 dias.

Em relação ao número de folhas, foi visto que as médias entre os tratamentos se equipararam, sendo que 70,37% das mudas apresentaram um total e cinco ou seis folhas. Além disso, a área foliar do tratamento 7 foi a única que se diferiu do controle 2, sendo este um indicativo que a aplicação do consórcio microbiano triplo foi responsável em sobressair o controle, sobretudo quando os demais tratamentos inoculados não se

diferiram dele. Entretanto os efeitos da inoculação tripla não foram maiores que a adubação do controle 1. Outros trabalhos apontam os benefícios do uso de microrganismos no incremento da área foliar (SAGHAFI et al., 2018; SILVA et al., 2018)

Já em relação ao comprimento da raiz, foi observado que os inóculos sobretudo a estirpe de *Brevibacillus* sp. componente do tratamento 3 proporcionou um aumento muito significativo sendo maior que o controle 1. Sobretudo, as auxinas são responsáveis pelo alongamento da raiz, conseqüentemente a maior superfície radicular habilita a planta em uma melhor exploração de nutrientes condicionando na obtenção de recursos para um melhor crescimento (DEEPA, et al. 2010).

Contudo, o comprimento das raízes não representou necessariamente raízes com maior peso. E isso pode novamente estar sendo relacionado com a estratégia da planta para explorar o ambiente em busca de recursos, principalmente ao compararmos os extremos do tratamento 3 e controle 2 (Fig. 6 e Fig. 10). De certo modo os morangueiros que detinham de recursos demonstraram um crescimento vertical ganhando em comprimento radicular, sendo estes recursos os próprios hormônios vegetais disponibilizados pelas bactérias e seus estímulos (VACHERON et al., 2013). Quando estes recursos se encontram escassos as plantas possivelmente optaram por priorizar um crescimento horizontal, com maior proeminência de raízes primárias e volumosas (VERHAGE, 2020).

O peso da parte aérea e total das mudas indica que o controle 1 apresentou médias consideravelmente maiores que alguns tratamentos, o que sugere que nestes casos a adubação a 30% de N e P conjunta a inoculação dos microrganismos não proporcionou o acúmulo de biomassa que sobressaísse a adubação com 100% destes nutrientes. Alguns tratamentos resultaram em medidas equivalentes ao controle 1, entretanto o controle 2 que não continha microrganismos aplicados também se equiparou tanto aos tratamentos inoculados quanto ao controle 1. Isso indica que nas condições experimentais os morangueiros apresentaram pesagens que não dependem exclusivamente do inóculo aplicado. Desta forma, é possível concluir que o inóculo bacteriano em determinadas condições está relacionado com eficiência de acúmulo de biomassa, e em outras condições pode também reduzir a conversão de nutrientes em matéria, visto as pesagens abaixo que a observadas no controle 2 observadas nos tratamentos 1 e 6 para o peso seco (Fig. 9, B).

Outros estudos, indicam que a aplicação de microrganismos beneficia o incremento da biomassa vegetal (GOMES et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020). Adicionalmente é visto que com adubações maiores o emprego de microrganismos confere um maior ganho na biomassa. Andrade et al. (2019) demonstrou que para morangueiro a inoculação de *Azospirillum brasilense* + *Burkholderia cepacia* + *Enterobacter cloacae* suplementadas com adubação com 50% de nitrogênio proporcionou o incremento da biomassa total da planta em 160,13% (12,54g – 32,62g) quando comparada ao controle sem adubação nitrogenada.

De maneira geral, ao comparar todos os resultados, é possível observar que os microrganismos contribuíram no incremento do diâmetro da coroa, na alongação radicular e no aumento da área foliar. Em outros aspectos como o incremento de matéria fresca e seca foliar não superaram os valores de rendimento do controle 1, porém chegaram a ser maiores que o controle 2. Já para o peso seco da raiz não foi influenciado pela adubação ou pelos inóculos.

É importante ressaltar a relevância que o emprego dos microrganismos desempenhou no desenvolvimento do morangueiro. Ao se comparar os controles do experimento é possível observar que na maioria das variáveis analisadas existiu uma diferença estatisticamente significativa, o que sugere que a adubação utilizada entre estes tratamentos tem um efeito significativo. Ao comparar os tratamentos inoculados observamos que mesmo com adubação reduzida a maioria deles apresenta rendimentos maiores que o controle 2, e até mesmo equivalentes ao controle 1. Sendo assim é possível afirmar que a utilização dos microrganismos compensa a baixa adubação possibilitando a sua redução em 70%.

Resultados semelhantes foram atingidos em outros estudos. Rosa et al. (2020), evidenciou que a utilização de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* possibilitou a redução da demanda de adubação fosfatada em 75% para cana de açúcar. Bona et al. (2017) por sua vez concluíram que a aplicação do consórcio composto por um Fungo micorrízico arbuscular + *Pseudomonas* sp. + *Pseudomonas fluorescens*, auxiliou na redução da adubação de tomate em campo em 30%.

## 5 CONCLUSÃO

O maior esclarecimento que este estudo proporcionou foi que a aplicação de bactérias como promotoras de crescimento pode diminuir a demanda de adubação em até 70%, visto que a maioria dos tratamentos se equiparou estatisticamente com a aplicação com adubação a 100% de N e P. Desta maneira, a utilização de bactérias promotoras de crescimento se faz cada vez mais necessária e viável para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável.

Foi possível avaliar que os microrganismos selecionados apresentam características notáveis para a promoção de crescimento em vegetais, de modo que a inoculação singular ou em combinações podem acarretar em resultados semelhantes dependendo da competência das bactérias utilizadas. Desta maneira, novos estudos podem estar sendo realizados para avaliar outros metabólitos microbianos de interesse, melhor compreender a interação entre planta x microrganismo e até mesmo a para formular bioinoculantes com base nestes microrganismos.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, D. B; ZUBERER, D. A. **Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria.** *Biology and Fertility of Soils*, v.12, n.1, p. 39-45, 1991.
- ALORI, E. T.; BABALOLA, O. O. **Microbial Inoculants for Improving Crop Quality and Human Health in Africa.** *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 2018.
- ANDRADE, F. M. *et al.* **Beneficial effects of inoculation of growth-promoting bacteria in strawberry.** *Microbiological Research*, 2019.
- ARKHIPCHENKO, I. A.; SHAPOSHNIKOV, A. I.; KRAVCHENKO, L. V. **Tryptophan concentration of animal wastes and organic fertilizers.** *Applied Soil Ecology*. v. 34, p. 62-64, 2006.
- BERENDSEN, R. L. *et al.* **Disease-induced assemblage of a plant-beneficial bacterial consortium.** *The ISME Journal*, v. 12, n. 6, p. 1496–1507, 2018.
- BERRAQUERO, F. R.; BAYA, A. M.; CORMENZANA, A. R. **Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo.** *Ars Pharmaceutica*, v.17, p.339-406, 1976.
- BILLAH, M. *et al.* **Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture.** *Geomicrobiology Journal*, v. 36, n. 10, p.904–916, 2019.

BONA, E., *et al.* **Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads improve yield, quality and nutritional value of tomato: a field study.** *Mycorrhiza* v. 27, p. 1–11, 2017.

BRADÁČOVÁ, K. *et al.* **Microbial Consortia versus Single-Strain Inoculants: An Advantage in PGPM-Assisted Tomato Production?** *Agronomy*, v. 9, n. 2, p. 105, 2019.

BRITO, T. *et al.* **Growth Promotion by *Azospirillum brasilense* in the Germination of Rice, Oat, *Brachiaria* and Quinoa.** *Journal of Experimental Agriculture International*, v. 22, n. 1, p. 1-9, 2018.

CHAGAS JUNIOR, A. F. *et al.* **Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbios isolados de solos da Amazônia.** *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 32, n. 2, p. 359-366, 2010.

CONIGLIO, A. *et al.* ***Azospirillum* as Biofertilizer for Sustainable Agriculture: *Azospirillum brasilense* AZ39 as a Model of PGPR and Field Traceability.** *Microbial Probiotics for Agricultural Systems*, p. 45–70, 2019.

DEEPA, C. K.; DASTAGER, S. G.; PANDEY, A. **Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria from non-rhizospheric soil and their effect on cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seedling growth.** *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 26, n. 7, p. 1233–1240, 2010.

FAGHERAZZI, A.F. *et al.* **Strawberry production progress in Brazil.** *Acta Hort.*, v. 1156, p 937-940, 2017.

FERREIRA, C. M. H.; VILAS-BOAS, Â.; SOUSA, C.A. **Comparison of five bacterial strains producing siderophores with ability to chelate iron under alkaline conditions.** *AMB Expr* v.9, 78, 2019.

FRANCHE, C.; LINDSTRÖM, K.; ELMERICH, C. **Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants.** *Plant Soil*, v. 321. p. 35–59, 2009.

GALINDO, F. S. *et al.* **Corn shoot and grain nutrient uptake affected by silicon application combined with *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen rates.** *Journal of Plant Nutrition*, p. 1–17, 2021.

GOMES, E. A. *et al.* **Microrganismos promotores do crescimento de plantas.** Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG, p.51. 2016.

GOMES, D. G.; RADI, A. J.; AQUINO, G. S. **Bactérias promotoras de crescimento alteram o desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular da canola.** *Semina: Ciências Agrárias*, v. 39, n. 6, p. 2375, 2018.

GORDON, S. A.; WEBER, R. P. **Colorimetric estimation of indoleacetic acid.** *Plant Physiology*, v.26, n. 1, p.192-195, 1951.

HASHMI, I. *et al.* **Comparison of the plant growth promotion performance of a consortium of *Bacilli* inoculated as endospores or as vegetative cells.** *FEMS Microbiology Ecology*, 2019.

HOAGLAND, D.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soil.** California Agriculture Experimental Station Circular, p. 347, 1950.

KANG, S. M. *et al.* **Phosphate Solubilizing *Bacillus megaterium* mj1212 Regulates Endogenous Plant Carbohydrates and Amino Acids Contents to Promote Mustard Plant Growth.** Indian Journal of Microbiology, v. 54, n. 4, p. 427–433, 2014.

LIU, D. *et al.* **Promotion of iron nutrition and growth on peanut by *Paenibacillus illinoisensis* and *Bacillus* sp. strains in calcareous soil.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 48, n. 4, p. 656–670, 2017.

LOACES, I.; FERRANDO, L.; SCAVINO, A. F. **Dynamics, diversity and function of endophytic siderophore-producing bacteria in rice.** Microbial Ecology, v.61, n. 3, p.606-618. 2011.

LOUDEN, B. C.; LYNNE, A. M.; HAARMANN, D. **Use of Blue Agar CAS Assay for Siderophore Detection.** Journal of Microbiology & Biology Education, v. 12, n. 1, p. 51–53, 2011.

LOVAISA, N. C. *et al.* **Total and marketable fruit yield of strawberry plants grown under different levels of nitrogen fertility and inoculated with *Azospirillum brasilense* REC3.** Revista agronómica del noroeste argentino, v. 36, n. 1, p. 43-46, 2016.

MACIAS-BENITEZ, S. *et al.* **Rhizospheric Organic Acids as Biostimulants: Monitoring Feedbacks on Soil Microorganisms and Biochemical Properties.** Frontiers in Plant Science, v. 11, 2020.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. **The rhizosphere microbiome: significance of plant-beneficial, plant pathogenic and human-pathogenic microorganisms.** FEMS Microbiology Reviews, Amsterdam, v. 37, p. 634-663, 2013.

NANDISH, M. S. **Development and evaluation of liquid plant growth promoting rhizo microbial consortia for healthy Radish (*Raphanus sativus*) production.** 14th Annual Conference on Crop Science and Agriculture. Agrotechnology, v. 7, 2018.

NAUTIYAL, C. **An efficient microbiological growth médium for screening phosphate solubilizing microorganisms.** FEMS Microbiology Letters, v. 170, p. 265-270, 1999.

NOSHEEN, A. *et al.* **Improvement of safflower oil quality for biodiesel production by integrated application of PGPR under reduced amount of NP fertilizers.** PLOS ONE, 13, n. 8, 2018.

OLANREWAJU, O. S.; BABALOLA, O. O. **Bacterial Consortium for Improved Maize (*Zea mays* L.) Production.** Microorganisms, v. 7, n. 11, 2019.

OLUWAMBE, T. M.; KOFOWOROLA, A. A. **Comparison of single culture and the consortium of growth-promoting rhizobacteria from three tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) varieties.** Adv Plants Agric Res, v. 5, n. 1, p. 448-455, 2016.

PATEL, P.; PANCHAL, K. **Effect of Free-Living Nitrogen Fixing and Phosphate Solubilizing Bacteria on Growth of *Gossypium hirsutum* L.** Asian Journal of Biological and Life Sciences, v. 9, n. 2, p. 169-176, 2020.

PIGNATI, W. **Uso de agrotóxicos no brasil: perspectiva da saúde do trabalhador e ambiental.** Rev Bras Med Trab. v. 16, 37 p., 2018.

RANA, G. *et al.* **Calcite Solubilization by Bacteria: A Novel Method of Environment Pollution Control.** Geomicrobiology Journal, v. 32, n. 9, 846–852, 2015.

RESENDE FILHO, M. A. *et al.* **Economic and productivity incentives to produce organically in Brazil: Evidence from strawberry production in the Federal District.** Renewable Agriculture and Food Systems, p.1–14, 2017.

RÍOS-RUIZ, *et al.* **Inoculation of bacterial consortium increases rice yield (*Oryza sativa* L.) reducing applications of nitrogen fertilizer in San Martin region, Peru.** Rhizosphere, v. 14, n. 100200, 2020.

ROMERO-PERDOMO, F. *et al.* **Azotobacter chroococcum as a potentially useful bacterial biofertilizer for cotton (*Gossypium hirsutum*): Effect in reducing N fertilization.** Revista Argentina de Microbiología, v. 49, n. 4, p. 377–383, 2017.

ROSA, P. A. L. *et al.* **Inoculation With Growth-Promoting Bacteria Associated With the Reduction of Phosphate Fertilization in Sugarcane.** Frontiers in Environmental Science, 8, 2020.

SAGHAFI, D.; GHORBANPOUR, M.; LAJAYER, B. A. **Efficiency of Rhizobium strains as plant growth promoting rhizobacteria on morpho-physiological properties of *Brassica napus* L. under salinity stress.** Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2018.

SANDINI, I. E. *et al.* **Seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* promotes growth, yield and reduces nitrogen application in maize.** Intl. J. Agric. Biol., v. 22, p. 1369–1375, 2019.

SANTOS, S. *et al.* **Siderophore Production by *Bacillus megaterium*: Effect of Growth Phase and Cultural Conditions.** Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 172, n. 1, p. 549–560, 2013.

SHARPLEY, A. N. **Soil phosphorus dynamics: agronomic and environmental impacts.** Ecological Engineering, v. 5, n. 3, p. 261–279, 1995.

SHENG, M. M. *et al.* **Siderophore Production by Rhizosphere Biological Control Bacteria *Brevibacillus brevis* GZDF3 of *Pinellia ternata* and Its Antifungal Effects on *Candida albicans*.** J. Microbiol. Biotechnol. v. 30, p. 689-699, 2020

SILVA, C. *et al.* **Growth-promoting potential of bacterial biomass in the banana micropropagated plants.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 22, n. 11, 782–787, 2018.

SRIVASTAVA, P. K. *et al.* **Pesticides in Crop Production.** 1. ed. Hoboken -NJ. John Wiley & Sons, Inc., p. 55-63, 2020.

SULIASIH; WIDAWATI, S., **Isolation of Indole Acetic Acid (IAA) producing *Bacillus siamensis* from peat and optimization of the culture conditions for maximum IAA production.** IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, p. 572, 2020.

SUN, F. *et al.* **Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from *Mikania micrantha* rhizospheric soil and their effect on *M. micrantha* plants.** Global Ecology and Conservation, 2020.

TAMILSELVI, S. M.; THIYAGARAJAN, C.; UTHANDI, S. **Calcite Dissolution by *Brevibacterium* sp. SOTI06: A Futuristic Approach for the Reclamation of Calcareous Sodic Soils.** Frontiers in Plant Science, v. 7, 2016.

TOFFOLI, L. M. *et al.* **Natural occurrence of *Azospirillum brasilense* in petunia with capacity to improve plant growth and flowering.** Journal of Basic Microbiology, v. 61, n. 7, p. 662–673, 2021.

TORTORA, M. L.; DÍAZ-RICCI, J. C.; PEDRAZA, R. O. ***Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*.** Archives of Microbiology, v. 193, n. 4, p. 275–286, 2011.

VACCARI, D. A.; POWERS, S. M.; LIU, X. **A demand-driven model for global phosphate rock suggests paths for phosphorus sustainability.** Environmental Science & Technology, v. 53, p. 10417–10425, 2019.

VACHERON, J., *et al.* **Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning.** Frontiers in Plant Science, v. 4, 2013.

VERHAGE, L. **Underground allies: how bacteria stimulate plant growth by altering root development.** The Plant Journal, v. 103, n. 5, p. 1637–1638, 2020.

VINCENT, J. M: **Manual práctico de Rizobiología.** Buenos Aires: Hemisferio Sur, p. 178, 1975.

WALAN, P. *et al.* **Phosphate rock production and depletion: Regional disaggregated modeling and global implications.** Resources, Conservation and Recycling, v. 93, p.178–187, 2014.

WANG, J. *et al.* **Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application.** BMC Microbiology, v. 20, n. 1, 2020.

YADAV, H., *et al.* **Optimization of culture conditions for phosphate solubilization by a thermo-tolerant phosphate-solubilizing bacterium *Brevibacillus* sp. BISR-HY65 isolated from phosphate mines.** Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 2, n. 3, p. 217–225, 2013.