UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

MICRO-ORGANISMOS ENCAPSULADOS NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO INICIAL DE FRUTÍFERAS

Fernanda Cristina do Nascimento

Química

Jaboticabal

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

MICRO-ORGANISMOS ENCAPSULADOS NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO INICIAL DE FRUTÍFERAS

Fernanda Cristina do Nascimento

Orientador: Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Antonio de Ávila

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre Microbiologia Agropecuária.

Jaboticabal

2016

Nascimento, Fernanda Cristina do
N244m Micro-organismos encapsulados na promoção de crescimento inicial de frutíferas / Fernanda Cristina do Nascimento. – – Jaboticabal, 2016
x, 54 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Everlon Cid Rigobelo
Banca examinadora: Mariana Carina Frigieri, Leonardo Lucas Madaleno
Bibliografia

1. Frutíferas. 2. Encapsulamento. 3. Inóculo microbiano. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 576.8:631.547

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: MICRO-ORGANISMOS ENCAPSULADOS NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO INICIAL DE FRUTÍFERAS

AUTORA: FERNANDA CRISTINA DO NASCIMENTO
ORIENTADOR: EVERLON CID RIGOBELO
CO-ORIENTADOR: FERNANDO ANTONIO DE ÁVILA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FERNANDO ANTONIO DE ÁVILA
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. MARIANA CARINA FRIGIERI
Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza / FATEC - Jaboticabal/SP

Prof. Dr. LEONARDO LUCAS MADALENO
Centro Est. de Educação Tecnológica Paula Souza / FATEC - Jaboticabal/SP

Jaboticabal, 21 de julho de 2016.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

FERNANDA CRISTINA DO NASCIMENTO – Nascida em 31 de outubro de 1987, em Sertãozinho, estado de São Paulo, filha de Sergio Luiz do Nascimento e Gasparina Luzia Ramos do Nascimento, casada com Samuel Guidi Pinotti e mãe do Lucas Nascimento Guidi Pinotti. Tornou-se Licenciada em Química em dezembro de 2012, pelo Instituto Federal de São Paulo –IFSP, Câmpus de Sertãozinho, SP. Ingressou no programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, iniciado em agosto de 2014 sob orientação do Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo.

“O conhecimento é uma ferramenta e como todas as ferramentas, o seu impacto está nas mãos de quem a usa”.

Dan Brown

À minha Família,

Aos meus pais pela total contribuição e dedicação em todos os momentos da minha vida, aos meus irmãos que sempre farão parte da minha história, aos meus sogros e cunhados por todo apoio prestados e aos meus amigos que me acompanharam em todos os momentos.

Ao meu maior apoiador Samuel,

Pela ajuda física e intelectual, pelos cuidados e companheirismo ao longo dos anos, sem o seu apoio não disso seria possível.

Ao meu filho Lucas,

A ingenuidade ainda não o faz perceber o quanto tem me ajudado desde bem pequeno, sempre sendo paciente apesar de algumas ausências, foi com certeza minha maior fonte de força para chegar até aqui.

Com muito amor,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente á Deus, pela oportunidade alcançada e pela força e fé de todos os dias para que o trabalho fosse concretizado.

Aos meus Pais Sergio e Gasparina pela educação que me deram e pelo exemplo de vida que sempre serão pra mim.

A minha família, aos meus sogros e em especial a Tia Maria Teresa que me serviu de exemplo e fonte de inspiração de que uma mulher é capaz de conquistar tudo a que se propões a fazer, sem esquecer sempre de amar e cuidar de todos os que nos cercam. Aos demais que com cada gesto de colaboração ajudou com que os meus dias fossem prazerosos e eu pudesse seguir com meus na construção e realização dos meus sonhos.

O meu imenso amor as duas pessoas mais importantes da minha vida, Lucas e Samuel, ao qual sem vocês não teria motivo para tentar fazer deste um mundo melhor, pois vocês fizeram meu mundo melhor.

Ao Prof. Dr. Everlon, pela confiança e paciência ao longo de todo o trabalho e pela colaboração intelectual que foi muito importante e agregou muito valor e conhecimento na elaboração do experimento.

Ao grande Assis pelas imensas contribuições dentro e fora do laboratório, o conhecimento quando dividido consegue alcançar milhões de pessoas e isso tem se espalhado a cada ensinamento passado e divido ao longo de seus mais de 30 anos de experiência no laboratório, exemplo de pessoa e funcionário que vou carregar sempre comigo.

Aos meus amigos, que apesar do passar tempo a nossa amizade continua a mesma, independente do tempo que passamos juntos.

Ao meu amigo Carlos Barbosa a quem dividi o experimento e que foi crucial na realização do todo, meu carinho eterno a essa pessoa maravilhosa de uma mente brilhante.

Aos meus amigos do Laboratório LSM pela colaboração prestada ao longo da realização do experimento.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente colaboraram para que o trabalho fosse concluído, meu muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....xi

ABSTRACT.....xii

1. INTRODUÇÃO.....1

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....4

2.1 Potencial da Fruticultura no Brasil.....4

2.2 Uso de Inoculante Microbiano na Agricultura.....5

2.3 Encapsulação de micro-organismos.....8

3. MATERIAIS E MÉTODOS.....9

3.1 Preparo do inóculo.....10

3.2 Encapsulamento do inóculo com Alginato de sódio.....11

3.3 Encapsulamento do inóculo com argila.....12

3.4 Avaliações Biométricas.....13

3.5 Atividade da enzima Desidrogenase.....13

3.6 Determinação do amônio (NH4+) e nitrato (NO3-).....13

3.7 Fosfato solúvel em bicarbonato.....14

3.8 Carbono Biomassa Microbiana (CBM).....14

3.9 Número total de bactérias (UFC).....15

3.10 Análise Estatística.....15

4. RESULTADOS.....15

4.1 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo em mudas de Araçá-Boi.....15

4.2 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo em mudas de Mamey...20

4.3 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo em mudas de Manga....23

4.4 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo em mudas de Pitanga...25

5. DISCUSSÃO.....27

5.1 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo na análise químicas do solo.....29

5.2 Atividade da enzima da desidrogenase.....29

5.3 Teor de amônio e nitrato.....30

5.4 Fósforo Solúvel.....31

5.5 Carbono da biomassa microbiana (CBM).....32

5.6 Número total de bactérias.....32

6. CONCLUSÃO.....34

7. REFERÊNCIAS.....35

MICRO-ORGANISMOS ENCAPSULADOS NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO INICIAL DE FRUTÍFERAS

RESUMO- O presente trabalho teve como objetivo avaliar a inoculação de micro-organismos encapsulados em mudas de frutíferas verificando a interação do inóculo com agentes encapsulantes como a argila e o alginato. O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, no esquema fatorial 3x2. Os tratamentos foram: controle, inóculo, argila, argila com inóculo, alginato e alginato com inóculo microbiano. As mudas foram mantidas em condições de viveiro durante um período de três meses. As análises realizadas nas plantas foram altura e diâmetro, matéria seca foliar e de raiz. As avaliações no solo foram teor de amônio e nitrato, atividade enzimática da desidrogenase, fosfato solúvel, carbono da biomassa microbiana e número total de bactérias. Nenhum tratamento promoveu o aumento de altura, diâmetro, matéria seca foliar e matéria seca de raiz nas mudas das frutíferas comparado com o tratamento controle. Os agentes encapsulantes promoveram um efeito significativo, nos teores de amônio e nitrato, na concentração de carbono da biomassa microbiana e no número total de bactérias nas mudas de araçá-boi. Paras a mudas de mamey, manga e pitanga não foram encontradas alterações significativas. Os resultados sugerem que os agentes encapsulantes utilizados como a argila e alginato na presença ou ausência de micro-organismos podem melhorar alguns parâmetros de solo, apesar de não terem promovido um maior crescimento vegetal.

Palavras-chaves: Frutíferas, encapsulamento, inóculo microbiano, promotores de crescimento de plantas.

INCAPSULATED MICROORGANISMS IN INITIAL GROWTH PROMOTING ON THE FRUIT CROP

Abstract – This study had as aim evaluate the inoculation of immobilized microorganisms at seedlings of fruit trees to verify interaction between encapsulating agents such as clay and alginate. The trial was carried out randomized design with five replicates at 3 x 2 factorial. The treatments were: control, inoculum, clay, clay plus inoculum, alginate and alginate plus microbial inoculum. The seedlings were kept at nursery conditions during three months. The analysis carried out at plants were shoot dry matter and root dry matter. The soil assessment were ammonium and nitrate content, dehydrogenase enzymatic activity, soluble phosphate, microbial biomass carbon bacteria total number. No treatment promoted the increase of plant height, diameter, shoot dry matter and root dry matter of the fruit trees compared to control. The encapsulating agents promoted significant effect at the ammonium and nitrate content at the carbon concentration and also at the bacteria total number at the araçá-boi seedlings. To mamey, manga and pitanga seedlings did not find significant changes. The results suggest that encapsulating agents used such as clay and alginate together with microorganisms or not might improve some soil parameters, even though, the plant growth had not been promoted.

KEY-WORDS: Fruit trees, encapsulating, microbial inoculum, plant gowth promoting.

1. INTRODUÇÃO

Potencialmente, uma maneira de diminuir os impactos ambientais negativos decorrentes do uso contínuo de fertilizantes químicos, herbicidas e inseticidas é o uso de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP). Este termo foi utilizado pela primeira vez por Kloepper e Schroth (1978) para descrever bactérias de solo que colonizavam a rizosfera das plantas, crescendo dentro ou ao redor dos tecidos das plantas estimulando seu crescimento por diversos mecanismos.

A rizosfera é uma fina área de solo circundando a área da raiz que é imensamente influenciada pelo sistema radicular (HARTMAN et al., 2008). Comparado com a massa vizinha de solo, esta área é rica em nutrientes, devido à acumulação de uma grande variedade componentes orgânicos liberados pelas raízes através dos exsudatos, secreção e rizodeposição. Estes componentes orgânicos podem ser usados como fontes de carbono e energia pelos micro-organismos ocasionando assim, a intensa atividade microbiana na rizosfera. A rizosfera é por isso, a “casa” de uma grande variedade de bactérias associadas às raízes comumente chamadas de rizobactérias. As rizobactérias benéficas, que influenciam positivamente o crescimento das plantas, são chamadas de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (CHAUHAN et al., 2015).

A ciência busca entender como essas rizobactérias realizam seu efeito positivo ou negativo, e muitos estudos tem sido publicado sobre esses micro-organismos. Alguns estudos verificaram *in vitro* algumas características de rizobactérias tais como: síntese de fitormônios (CASSÁN et al., 2009; HOYOS-CARVAJAL et al., 2009; RASHEDUL et al., 2009; ABBASI et al., 2011); como as auxinas (KHALID et al., 2004); síntese de sideróforos (FILIPPI et al, 2011; YU et al., 2011); solubilização de fósforo (YASMIN et al., 2004; TAJINI et al., 2012; KREY et al., 2013); ou fixação de nitrogênio (PEIX et al., 2001; RIGGS et al., 2001; FISHER et al., 2007). Estas características foram usadas para se isolar as RPCP diretamente das rizosferas e para selecionar suas atividades de promoção de crescimento em plantas sob condições axênicas. Uma vez que os micro-organismos candidatos a

RPCP se mostraram promissores no crescimento de plantas em condições controladas, eles foram em seguida usados como inóculos para plantas cultivadas em condições naturais em parcelas e/ou ensaios de campo. A aplicação das RPCP em leguminosas tem sido principalmente restrita à manipulação do rizóbio para estudos sobre crescimento e desenvolvimento de leguminosas, especificamente por meios de nodulação e fixação de nitrogênio. Obviamente, a principal razão para isso é porque existe um grande número de espécies de rizóbio originadas do solo que podem estabelecer uma simbiose com as plantas leguminosas (COOPER, 2008). Por isso, o rizóbio pode ser considerado o mais conhecido benefício de planta associado à bactéria e o mais importante biofertilizante.

A imobilização de inóculos microbianos tem sido usada para melhorar sua efetividade por suprir de nutrientes, proteção contra dessecação e por uma baixa liberação de células (BASHAN, 1998; KIM et al., 2012). O sucesso do uso de inóculos microbianos introduzidos no solo requer a sobrevivência adequada do número de bactérias chegando a um habitat adequado onde eles possam ficar vivos (HEIJNEN e VAN VEEN, 1991). O princípio da imobilização de rizobactérias é para proteger os micro-organismos (SCHOEBITZ et al, 2012) e garantir uma gradual e prolongada liberação no solo (BASHAN et al., 2002).

Um exemplo de imobilização de células microbianas é mante-las aprisionadas fisicamente, sendo encapsulados em esferas utilizando agentes encapsulantes naturais como alginato e argila, porém existem outros agentes tanto naturais quanto sintéticos. Pode ser utilizado para encapsular fungos, bactérias, leveduras e enzimas, promovendo assim a formação de um excelente inoculante sólido, pois as células permanecem vivas de maneira que sua atividade catalítica não seja afetada (CANTARELLI, 1989).

Diversos estudos têm sido realizados dentro da área agrícola tanto no Brasil quanto no exterior com micro-organismos que são capazes de favorecer o crescimento de várias culturas vegetais. Alguns micro-organismos tem se mostrado como excelentes promotores de crescimento de plantas tais como o *Azospirillum brasilense,* a *Burkholderia cepacia, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacillus thuringienses, Bacillus megaterium e Trichoderma spp*.

As frutíferas *Eugenia stipitata*, conhecida popularmente como araçá-boi, *Mammea americana*, conhecida como mamey, *Mangifera indica,* conhecida popularmente como manga e *Eugenia uniflora* conhecida como pitanga. Essas frutíferas tem um interesse econômico promissor tanto no mercado interno quanto no externo, e algumas se encontram em período de extinção, onde a promoção do cultivo das mesmas diminuirá o risco disso ocorrer, promoverá a produção e favorecerá pequenos produtores de suas regiões nativas.

Desta forma, foi avaliada o efeito da interação entre o inoculante microbiano com os agentes encapsulantes argila e alginato, a fim de averiguar entre os quatro tipos de frutíferas a promoção de crescimento das mesmas com a liberação do inóculo microbiano, comparando assim os tratamentos que continham inóculo com e sem agente encapsulante.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Potencial da Fruticultura no Brasil

Atualmente o Brasil se encontra como o 3° maior produtor de frutas do mundo. Com um potencial enorme para a produção de frutas e com uma grande variedade sendo quase a metade constituída por espécies nativas da Amazônia legal. O clima tropical favorece essa produção e o setor emprega aproximadamente 5,6 milhões de pessoas, de acordo com o Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF). Os plantios ocupam 2,03 milhões de hectares que corresponde a 2,6% da área ocupada pela agricultura brasileira. A fruticultura está presente em todos os estados brasileiros, onde em cada região se produz uma variedade típica. Em 2014 segundo dados do Instituo Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o estado que mais produziu frutas foi São Paulo seguido pela Bahia. No ano de 2015 a produção foi de aproximadamente 43 milhões de toneladas de frutas. Esses valores estão se mantendo comparado com dados anteriores segundo IBGE.

Uma boa parte desta produção de frutas é exportada, tanto in natura, quanto como sucos ou néctares e em 2015 a desvalorização do dólar sobre o real favoreceu o setor, segundo divulgação da Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA). O Brasil é reconhecido pelo mercado externo pela qualidade de seus produtos, para manter essa preferência necessita-se da ampliação da produção de frutas com qualidade e sustentabilidade adotada pelos produtores agrícolas. De acordo com o Ministério da Agricultura , Pecuária e Abastecimento (MAPA), o fruticultor deve ter cuidado com o meio ambiente, segurança alimentar e responsabilidade social, a fim de se manter no mercado externo que atualmente está concentrado na União Europeia, que consome quase 80% dos produtos exportados pelo Brasil.

Existem alguns desafios na Fruticultura Brasileira que podem ser transformados em oportunidades como: práticas sustentáveis, desenvolvimento nas

exportações, controles de pragas e doenças e gestão de empreendimentos rurais (SALLES, 2014). Com relação ao manejo sustentável se destaca o uso de inoculantes, tanto na promoção do crescimento de plantas quanto para o controle biológico de pragas e doenças. O maior número de pesquisa com o uso de inoculantes microbianos foram feitos nas culturas de milho e soja. Poucos estudos foram feitos com frutíferas e um número ainda menor com frutíferas exóticas. Em consequência disso pouco se sabe sobre os efeitos do uso de agentes encapsulantes e de inoculantes microbianos na promoção de crescimento dessas culturas vegetais.

2.2 Uso de Inoculante Microbiano na Agricultura

A busca por sistemas sustentáveis para o desenvolvimento agrícola gera um desafio em desenvolver sistemas que possam garantir a qualidade e a quantidade da produção com utilização de produtos que não agridam o meio ambiente e que sejam capazes de garantir uma produção satisfatória tanto para grandes ou pequenos agricultores.

Essa preservação ambiental tem cada vez mais se intensificando no setor agrícola e a busca por produtos alimentícios orgânicos, sem adição de agrotóxicos ou fertilizantes químicos gerou uma procura por inoculantes microbianos eficazes para a produção agrícola. Os benefícios causados pelo uso do inoculante vão desde o crescimento da planta até a preservação do meio ambiente, onde a diminuição do uso de fertilizantes químicos gera também a diminuição da contaminação dos lençóis freáticos causada, por exemplo, pela lixiviação que leva o nitrogênio dos adubos, além da liberação do mesmo no ar atmosférico, essa adubação gera também um alto custo para o agricultor, pois os componentes desses adubos químicos segue a cotação do dólar.

Um caminho para a sustentabilidade agrícola se encontra presente na microbiota natural do solo. Esse sistema sempre existiu, mas atualmente tem se

intensificado as pesquisas voltadas na relação entre micro-organismos e a planta, a fim de garantir uma melhora desse sistema, favorecendo aqueles micro-organismos que se destacam na promoção do crescimento das plantas realizadas por diversos mecanismos, onde eles atuam naturalmente para a preservação do meio ambiente trazendo equilíbrio ao ecossistema (FERREIRA et al., 2008).

As técnicas de biotecnologia utilizando micro-organismos permitiu a produção de inoculantes agrícolas que consequentemente promoveu uma redução do uso de produtos químicos e do custo de produção agrícola (ARAÚJO; CARVALHO, 2006).

Bactérias como *Azospirillum* apresentam várias espécies que crescem amplamente na rizosfera de gramíneas e após serem isoladas e utilizadas na produção vegetal apresentaram respostas positivas sobre a produtividade e na fixação biológica de nitrogênio (FBN) (KIRCHHOF et al, 1997; HECHT;BUCHHOLZ, 1998; JAMES, 2000; HAUWAERTS, 2002; RAMOS, 2002; FISCHER, 2003). A bactéria *Burkholderia cepacia* é uma importante bactéria no processo de FBN (BALDANI et al., 1999), existindo outros gêneros de micro-organismos que também são eficientes nesses processos como fixadores simbióticos associativos, sem a complexidade da formação de nódulos típicos de *Rhizobium* (ARAUJO, 2008).

Isolados epifíticos de *Bacillus*, apresentaram efeitos satisfatórios sendo utilizados como biocontrole, em destaque estão os isolados *Bacillus subtilis, Bacillus megaterium* e *Bacillus cereus* (ASSIS et al., 1997; LUNA et al. 2002), *Bacillus subtilis* também obteve respostas satisfatórias na promoção do crescimento de plantas (LUZ, 1993a; LUZ, 1994), a utilização de *Bacillus thuringienses*, também se destacou como um dos mais eficientes (ASSIS, 2002; GOMES et al., 2003). A *Trichoderma spp* se destaca entre os principais fungos utilizados como agente de biocontrole (MELO, 1998; HARMAN, 2006; HARMAN et al., 2004; BENITEZ et al., 2004; MARTINS et al., 2000) e também na promoção de crescimentos de plantas (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; BAKER, 1987; CHANG et al., 1986; WINDHAM et al., 1986).

Os micro-organismos promotores de crescimento de plantas possuem habilidades de promoverem um melhor desenvolvimento nas plantas que os

receberam como inóculos (PANDEY; MAHESHWARI, 2007), para Bashan (1998) essa definição se dá para as formulações que contém uma ou mais estirpes de micro-organismos benéficos capazes de promover crescimento vegetal por mecanismos como produção de fitormônios, agindo simultaneamente ou não com fixação biológica de nitrogênio e agentes biológicos (SILVA, 2009).

Os inoculantes microbianos produzidos podem ser encontrados na forma líquida, sólida ou oleosa, que são compostos por turfa e estes representam o maior porcentual comparados com os demais, pois apresenta alta capacidade de retenção de umidade, pois não é tóxica para os micro-organismos, sendo de fácil esterilização e apresenta baixo custo (HUNGRIA et al., 2005), porém por se tratar de um recurso que apresenta longo período geológico de formação, seu uso é limitado e pode se tornar escasso futuramente (BUCHER; REIS, 2008; SILVA, 2009). Os inoculantes líquidos apresentam eficácia semelhante aos turfosos (ALBAREDA et al., 2008), porém apresentam dificuldade para manter uma população em quantidade ideal para se estabeleceram na rizosfera e proporcionar resultados semelhantes aos testados em laboratório quando em condições de campo (SILVA, 2009).

Há uma necessidade de pesquisas para se chegar a uma formulação adequada de inoculante que seja capaz de manter a eficácia desses micro-organismos em condições de campo sem perder suas propriedades, contendo meio satisfatório para preservar as células microbianas em atividade e promover assim sua liberação no solo, a fim de fixar uma quantidade suficiente para sua ação, mantendo benefícios de baixo custo e fácil manuseio desse material. A encapsulação de micro-organismos os protege, quando depositadas no meio ambiente, do estresse biótico causado por protozoários, bacteriófagos e inibição por compostos tóxicos, garantindo assim a sobrevivência e promovendo atividade fisiológica (PASSOS, 2006), entre outros benefícios a fim de garantir a preservação desses grupos microbianos facilitando assim sua propagação no solo.

2.3 Encapsulação de micro-organismos

Encapsulamento é um processo onde o material encapsulado é totalmente revestido por uma parede, formando uma cápsula e mantendo-o assim protegido, sendo diferente do processo de imobilização onde parte do material fica exposta na superfície (KING, 1995). O uso de encapsulação de micro-organismos tem por finalidade proteger suas células, pois quando estas são liberadas no meio ambiente, por exemplo, não sofrem ações externas que poderiam ser prejudicial, garantindo assim sobrevivência do material encapsulado por mais tempo (PASSOS, 2006).

O processo de encapsulação pode variar de acordo com aplicação do produto, sua composição, mecanismos de liberação, morfologia dos micro-organismos e custo. A função do produto é crucial para definir esse processo e para se definir a durabilidade e armazenamento, a liberação do material e o custo de produção (DESAI; PARK, 2005). Essa técnica visa evitar a degradação imediata do material a ser encapsulado, garantindo assim, uma aplicação controlada, onde o dispositivo de liberação pode ocorrer de acordo com o agente encapsulante utilizado, como por exemplo, temperatura, pH, força osmótica, entre outras ações físicas e químicas as quais esse material será exposto (GOUIN, 2004; DESAI; PARK, 2005).

Na indústria alimentícia, esse processo de encapsulação visa proteger o material do ambiente externo, assim como mudanças físicas, porém o agente encapsulante utilizado não deve alterar as qualidades sensoriais do produto. Atualmente esse processo é útil para manter a estabilidade de micror-organismos probióticos durante o processamento e estocagem. Podem também aumentar a resistência desses microrganismos durante transito no trato digestivo, possibilitando que eles cheguem ao intestino com condições de sobrevivência e colonização (SHEU; MARSHALL, 2003; DESAI; PARK, 2005; CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007; FAVARO-TRINDADE et al., 2008).

Entre os agentes encapsulantes temos os carboidratos que são mais utilizados pois apresentam baixo custo de produção e facilidade de agregação,

como o alginato de sódio, goma arábica, amido, entre outros. Entre os carboidratos o maior destaque é o uso do alginato sendo o principal agente da esferificação. Mistura-se o alginato ao líquido a ser encapsulado e depois se faz o gotejamento em solução de cloreto de cálcio para a formação das esferas, uma característica importante é que ele não é toxico sendo seguro para a aplicação de alimentos (SHEU; MARSHALL, 2003; DESAI; PARK, 2005; GOUIN, 2004).

A argila também é um bom agente encapsulante, com propriedades diferentes do alginato, mas mantendo as propriedades desejadas de um agente encapsulante. Esse material também não apresenta toxidade aos micro-organismos. O uso de argila em formulação para preservação de conídios demonstrou efeito satisfatório no armazenamento, garantindo a viabilidade do material por um longo período (SHI, 1998).

O uso de encapsulação de micro-organismos para o uso agrícola, se faz importante visando otimizar a eficácia desses micro-organismos no solo, protegendo-os e permitindo uma ação controlada, através da liberação lenta e gradual desse material, possibilitando a adaptação e a sobrevivência deles no solo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Ripado de Fruticultura, área pertencente ao Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, localizado nas coordenadas 21º14‟33””S e 48º17‟02”W, com altitude de 563m, durante o período de março a junho de 2015. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é Cwa (subtropical, com inverno seco e verão chuvoso). Durante o experimento a temperatura média foi com mínima de 17°C e máxima 28°C (http://www.climatempo.com.br/).

As mudas foram doadas pelo setor de fruticultura do Departamento de Produção Vegetal, as quais foram escolhidas de forma aleatória e possuindo dois meses de desenvolvimento em sacos plásticos. Durante todo o experimento as

mudas foram mantidas dentro das condições do viveiro, em temperatura ambiente e irrigadas diariamente por aspersor controlado automaticamente. Foram acompanhadas mudas de Araçá-boi (Figura 1 a), Mamey (Figura 1 b), Manga (Figura 1 c) e Pitanga (Figura 1 d).

Figura 1 a. Mudas de Araçá-boi

Figura 1 b. Mudas de Mamey

Figura 1 c. Mudas de Manga

Figura 1 d. Mudas de Pitanga

3.1 Preparo do inóculo

O inóculo utilizado neste estudo continha as seguintes espécies de micro-organimos *Azospirillum brasilense, Burkolderia cepacia, Bacillus thuringienses, Bacillus megaterium, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Tricoderma spp e Isolado 411*. Todos os micro-organismos fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia do solo do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus de Jaboticabal. Os micro-organismos cresceram separadamente em caldo nutriente por 7 dias em vários frascos na BOD à temperatura de 25º C (Figura 2). Após esse período de incubação os micro-

organismos foram centrifugados separadamente. A concentração de cada micro-organismos, foi determinada por espectrofotômetro de absorbância à 695 nm. O valor lido foi de 1,500 o que correspondeu a uma concentração de 1.10^7 UFC/mL.

Figura 2. Micro-organismos inoculados na B.O.D a 25º C.

3.2 Encapsulamento do inóculo com Alginato de sódio

A cada solução de micro-organismos foi adicionada uma solução de alginato de sódio na concentração de 1%. A solução de micro-organismos mais alginato de sódio foi gotejada em solução de cloreto de cálcio 0,1M, originando assim as esferas com inóculo microbiano. As esferas foram lavadas com água destilada com auxílio de uma peneira e armazenadas separadamente de acordo com cada micro-organismo. A cada 1 mL de solução de um micro-organismo originou 12 esferas (Figura 3 b). A diferença de coloração das esferas é devido ao corante incorporado para facilitar a identificação visual de cada micro-organismo. Como cada vaso recebeu 8 micro-organismos diferentes, consequentemente, cada muda recebeu 96 esferas microbianas no total, que foram depositadas entre a superfície da planta e o solo, em uma cavidade de aproximadamente 10cm de profundidade, a fim de se garantir a maior proximidade do material depositado nos solo com a raiz.

Para o tratamento que continha o alginato este recebeu apenas as esferas de alginato, sem a presença do inóculo microbiano (Figura 3 a), sendo adicionados 96 esferas por vaso.

Figura 3 a. Esferas de alginato

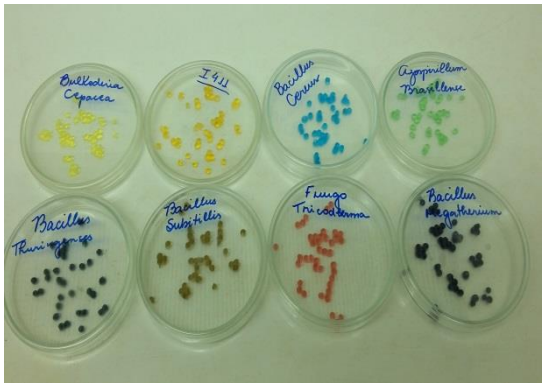

Figura 3 b. Esferas de alginato com inoculante

3.3 Encapsulamento do inóculo com argila

Para a inoculação dos micro-organismos com a argila preparou-se uma suspensão que continha 1mL de cada micro-organismo para 1mL de argila sob diluição de 1:3 de água destilada, cada vaso recebeu no total 8mL de inóculo microbiano adicionado a 8 mL de argila, depositados entre a superfície da planta e o solo, em uma cavidade de aproximadamente 10cm de profundidade, totalizando 16 mL por vaso.

Para o tratamento que continha somente à argila, realizou-se o mesmo procedimento, excluindo apenas a adição do inóculo microbiano.

Ao final desse período separou-se o solo da planta, este foi refrigerado para a realização das análises da atividade desidrogenase, determinação de amônio e nitrato, fosfato solúvel, carbono da biomassa microbiana e número total de bactérias. A planta foi dividida em parte aérea e raiz, lavadas em água corrente e armazenadas em sacos de papel onde permaneceram em estufa a 60° por 48h, após esse período foi aferida a massa.

3.4 Avaliações Biométricas

As avaliações biométricas nas frutíferas foram realizadas mensalmente durante três meses de avaliação no período de março a junho. As medições realizadas nas plantas foram altura, diâmetro do caule, massa seca parte aérea e raiz.

3.5 Atividade da enzima desidrogenase

Para avaliação da atividade da desidrogenase seguiu-se o método de Casida (1977) utilizando aproximadamente 3g de terra fina seca ao ar adicionando carbonato de cálcio e solução aquosa de TTC 3% (Trifenil Tetrazolium Cloreto de sódio). Acrescentou-se água destilada até a formação de uma película sobre a amostra e incubou-se em banho-maria a 37ºC por 24 horas. Após esse período a amostra foi diluída com metanol para a extração de todo o TFF (trifenilformazan) formado, filtrou-se e fez-se a leitura em Abs 485nm. A atividade foi calculada pela fórmula: atividade = volume da mistura x dados da curva padrão de TFF x volume do metanol utilizado / peso seco da amostra, o resultado determinou µg TFF / g de solo seco / 24h.

3.6 Determinação do amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-)

Para a determinação dos teores de amônio e nitrato seguiu-se o método de Keeney e Nelson (1982), utilizou-se aproximadamente 5g de amostra do solo fino e seco ao ar adicionou-se solução de cloreto de potássio 1 M sob agitação, após a decantação e extração retirou-se uma alíquota desse extrato e fez-se a determinação do amônio adicionando uma solução indicadora de ácido bórico. Em

seguida iniciou-se a destilação após adicionar á amostra o óxido de magnésio. Fez-se a titulação do extrato destilado com ácido sulfúrico 0,0025 M até a viragem da coloração verde para o rosa.

3.7 Fosfato solúvel em bicarbonato.

Para determinação dos teores de fósforo utilizou-se o método de Wanatabe e Olsen (1965). Utilizou-se aproximadamente 0,6g de terra fina seca ao ar adicionando uma solução de bicarbonato de sódio 0,5 M sob agitação e após a decantação filtrou-se. Para a determinação do fósforo utilizou-se o filtrado. No qual adicionou-se ácido sulfúrico 5 N e um reagente previamente preparado. Em seguida agitou-se e incubou em banho-maria à 45ºC por 20 min. A determinação do fósforo foi feita por colorimetria após a leitura Abs 820 nm. O resultado foi expresso em µg de P/ g de solo seco.

3.8 Carbono Biomassa Microbiana (CBM)

Para a determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM) seguiu-se o método de irradiação e extração, segundo Mendonça, Matos EMBRAPA (2005) que consiste na utilização da energia eletromagnética (micro-ondas) onde há um rompimento celular, liberando compostos intracelulares para a extração e quantificação do carbono. Essa determinação é feita pela diferença entre as quantidades de carbono da amostra de solo em duplicada sendo uma irradiada e outra não irradiada, ambas submetidas aos mesmos procedimentos. A extração foi feita com sulfato de potássio 0,5M e o extrato que foi oxidado com excesso de dicromato de potássio 0,066 M em meio ácido. A quantificação foi realizada pela titulação de uma alíquota do extrato com sulfato ferroso amoniacal 0,03 M.

3.9 Número total de bactérias (UFC)

O número de bactérias totais foi determinado segundo metodologia de Wollum (1982) em g solo seco^{-1}, através de diluições seriadas de suspensão do solo e após 24 horas fez-se a contagem de UFC em placas de petri que continham meio nutriente Agar. Foram contadas o número de colônias bacterianas em cada diluição nas placas e os valores foram expressos em unidade formadoras de colônias (UFC).

3.10 Análise Estatística

O experimento foi analisado em esquema fatorial de dois fatores (3x2) com cinco repetições. Os fatores foram constituídos por encapsulamento (controle, argila e alginato) e inóculo microbiano (presença e ausência). A análise de variância foi realizada pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a execução da análise estatística utilizou-se o Software AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JR, 2010).

4. RESULTADOS

4.1 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo em mudas de Araçá-Boi.

Os agentes encapsulantes juntamente com o inoculante microbiano não promoveram um maior desenvolvimento da planta do araçá-boi comparado com o tratamento controle (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios referentes à altura, diâmetro, matéria seca parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) do araçá-boi.

Tratamentos	**Altura**	**Diâmetro**	**MSPA**	**MSR**
Controle	2,33 a	0,35 a	2,72 a	2,37 a
Inóculo	6,00 a	0,32 a	2,56 a	2,23 a
Argila	1,00 a	0,35 a	2,15 a	1,81 a
Argila + Inóculo	1,00 a	0,35 a	3,04 a	2,70 a
Alginato	3,67 a	0,27 a	1,71 a	1,44 a
Alginato + Inóculo	1,50 a	0,34 a	2,14 a	1,80 a
C.V. (%)				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si; C.V.= Coeficiente de Variâção.

Quanto ao solo não houve diferença entre os tratamentos ($p<0,05$) para a atividade da desidrogenase, fósforo solúvel e carbono da biomassa microbiana em relação à aplicação dos agentes encapsulantes nem em relação à aplicação do inóculo (Tabela 2). A concentração de amônio (NH_4^+) foi maior para o tratamento que recebeu o alginato (87,05 µg N-NH_4^+) comparado com o a argila (79,33 µg N-NH_4^+) e controle (72,33 µg N-NH_4^+) ($p>0,01$). Entretanto, não houve diferença na concentração de amônio com relação a presença ou não de inóculo ($p<0,01$). Para os valores de nitrato, os agentes encapsulante argila e alginato, obtiveram maior valor comparado ao controle, assim como os tratamento que receberam inóculo ($p<0,01$). Para o número de bactérias totais, o maior valor foi encontrado para o alginato ($3,71 \times 10^6$ UFC g^{-1} solos seco) comparado com a argila ($1,79 \times 10^6$ UFC g^{-1} solos seco) e com o controle ($1,69 \times 10^6$ UFC g^{-1} solos seco). Entretanto, não houve diferença ($p<0,05$) do número de bactérias totais entre os tratamentos que receberam ou não o inóculo (Tabela 2).

Tabela 2. Valores das atividades de desidrogenase, teores de amônio e nitrato, fósforo solúvel e carbono da biomassa microbiana e número de bactérias totais.

	Desidrogenase µg TFF g^{-1} SS 24h	µg $N–NH_4^+$ g^{-1} SS	µg $N\text{-}NO_3^-$ g^{-1} SS	P solúvel µg P/g^{-1}SS	CBM µg C/g^{-1} SS	UFC g^{-1} SS
Encapsulamento (E)						
Controle	339,17 a	72,33 b	49,58 b	6,74 a	22,25 a	$1,69x10^6$ b
Argila	292,86 a	79,33 ab	59,50 a	6,52 a	17,56 a	$1,79 \times 10^6$ b
Alginato	315,48 a	87,05 a	59,50 a	8,01 a	19,47 a	$3,71 x10^6$ a
Teste F	$1,19^{ns}$	5,29*	8,26**	$1,06^{ns}$	$0,50^{ns}$	8,00**
DMS (5%)	79,94	12,45	7,52	2,94	12,56	$1,52. 10^6$
Inóculo (I)						
Com Inóculo	334,32 a	81,67 a	59,11 a	7,58 a	19,30 a	$2,31 \times 10^6$ a
Sem Inóculo	297,37 a	77,78 a	53,28 b	6,59 a	20,22 a	$2,18 \times 10^6$ a
DMS (5%)	53,30	8,30	5,01	1,96	8,37	$1,01 \times 10^6$
Interação E x I						
Test F	$2,28^{ns}$	$1,04^{ns}$	6,43*	$1,21^{ns}$	$0,06^{ns}$	$0,13^{ns}$
C.V. (%)	16,43	10,14	8,68	26,96	41,26	41,14

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a (5%); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco; TFF= trifenilformazan; CBM= carbono biomassa microbiana; UFC= unidade formadora de colônia; DMS= Diferencia mínima significativa; C.V.= coeficiente de variação.

Por meio da interação entre os fatores encapsulantes com relação ao inóculo microbiano, para a atividade da desidrogenase, se observa que o tratamento que recebeu inóculo foi significativamente maior (p>0,05) quando comparado ao tratamento que não recebeu o inóculo (Tabela 3).

Tabela 3. Valores da atividade da desidrogenase.

	Desidrogenase µg TFF g^{-1} SS /24h		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	289,81 a B	388,54 a A	5,43*
Argila	284,07 a A	301,67 a A	$0,17^{ns}$
Alginato	321,22 a A	318,22 a A	$0,02^{ns}$
Teste F	$0,37^{ns}$	$2,49^{ns}$	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05) ; significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco; TFF= trifenilformazan;

Os maiores valores após o desdobramento da interação entre encapsulamento e inoculante, para a concentração de amônio, foram encontrados nos tratamento que receberam o alginato com inóculo microbiano (93,33 µg TFF g-1 solo seco) comparado com os tratamento que não receberam o inóculo (Tabela 4), não houve diferença significativa (p<0,05) para os tratamento que não receberam o inóculo.

Tabela 4. Efeitos do fator de encapsulamento com relação ao inóculo, na quantificação de nitrogênio através da determinação de NH_4^+.

	µg $N–NH_4^+$ g^{-1} SS		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	72,33 a A	73,33 b A	$0,00^{ns}$
Argila	79,33 a A	79,33 ab A	$0,00^{ns}$
Alginato	81,67 a A	93,33 a A	$0,37^{ns}$
Teste F	$1,08^{ns}$	5,25*	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco

Para os tratamentos que não receberam o inóculo microbiano as maiores concentrações de nitrato foram obtidas nos tratamentos que receberam os agentes encapsulantes, alginato e argila (57,17 µg $N\text{-}NO_3^-$) comparado com o controle (45,50 µg $N\text{-}NO_3^-$) (p>0,05) (Tabela 5).

Tabela 5. Concentração de NO_3^- nos tratamentos que receberam alginato, argila e controle com ou sem o inóculo microbiano.

	µg $N\text{-}NO_3^-$ g^{-1} SS		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	45,50 b A	53,67 a A	$4,70^{ns}$
Argila	57,17 a A	61,83 a A	$1,37^{ns}$
Alginato	57,17 a A	61,83 a A	$1,37^{ns}$
Teste F	5,71*	$2,80^{ns}$	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco

Os resultados do desdobramento dos valores para a concentração de fósforo solúvel, mostraram que com relação aos agentes encapsulantes os maiores valores foi para o tratamento que continha alginato (8,74 µg P/g-1 solo seco) com relação a argila (6,54 µg P/g-1 solo seco) e o controle (4,50 µg P/g-1 solo seco) e na comparação entre a presença do inóculo microbiano o maior valor foi para o

tratamento que continha inóculo (8,98 µg P/g-1 solo seco) com relação ao tratamento sem inoculante microbiano (4,50 µg P/g-1 solo seco) (Tabela 6).

Tabela 6. Concentração de fósforo em µg P/g^{-1} solo seco nos tratamentos que receberam alginato, argila e controle com ou sem o inóculo microbiano.

	P solúvel µg P/g^{-1}SS		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	4,50 b B	8,98 a A	8,26*
Argila	6,54 ab A	6,50 a A	$0,00^{ns}$
Alginato	8,74 a A	7,27 a A	$0,89^{ns}$
Teste F	3,71*	$1,33^{ns}$	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco

O maior valor de carbono da biomassa microbiana foi obtido no tratamento que recebeu o alginato sem inóculo comparado com o alginato que recebeu o inóculo microbiano (27,12 µg C/g^{-1} SS) e (11,83 µg C/g^{-1} SS) respectivamente. Os valores de carbono da biomassa microbiana não diferiram entre os outros tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7. Quantidade de carbono da biomassa microbiana (CBM) em solo seco nos tratamentos que receberam alginato, argila e controle com ou sem o inóculo microbiano.

	CBM µg C/g^{-1} SS		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	19,53 a A	24,98 a A	$0,67^{ns}$
Argila	14,03 a A	21,08 a A	$1,12^{ns}$
Alginato	27,12 a A	11,83 a B	5,28*
Teste F	$1,95^{ns}$	$2,06^{ns}$	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). CBM = carbono biomassa microbiana; SS= solo seco; DMS= Diferencia mínima significativa.

Os resultados mostram que o alginato sem o inóculo microbiano promoveu um aumento no número total de bactérias (Tabela 8).

Tabela 8. Efeitos do fator de encapsulamento com relação ao inóculo, pela contagem do número total de bactérias (UFC).

	UFC g^{-1} SS		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	$1{,}71.10^6$ b	$1{,}67 \times 10^6$ a	$0{,}00^{ns}$
Argila	$1{,}60.10^6$ b	$1{,}98 \times 10^6$ a	$0{,}22^{ns}$
Alginato	$4{,}13.10^6$ a	$3{,}29 \times 10^6$ a	$1{,}09^{ns}$
Teste F	6,30*	$2{,}29^{ns}$	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). UFC = Unidade formadora de colônia; SS= solo seco; DMS= Diferencia mínima significativa.

4.2 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo em mudas de Mamey.

Os agentes encapsulantes juntamente com o inoculante microbiano não promoveram um maior desenvolvimento da planta do mamey comparado com o tratamento controle (Tabela 9).

Tabela 9. Valores médios referentes à altura, diâmetro, matéria seca parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) do mamey.

Tratamentos	**Altura**	**Diâmetro**	**MSPA**	**MSR**
Controle	9,0 a	0,44 a	2,59 a	1,19 a
Inóculo	17,33 a	0,41 a	2,93 a	0,94 a
Argila	14,83 a	0,42 a	2,92 a	1,06 a
Argila + Inóculo	15,00 a	0,38 a	2.49 a	0,95 a
Alginato	19,17 a	0,45 a	3,50 a	1,24 a
Alginato + Inóculo	19,67 a	0,40 a	3,49 a	1,33 a
C.V. (%)	29,15	10,34	23,95	20,60

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si; C.V.= Coeficiente de Variância.

Entre os valores principais a atividade da desidrogenase, carbono da biomassa microbiana e número total de bactérias, não obtiveram diferença significativa (p<0,01) (Tabela 10). O maior valor para o teor de amônio e nitrato foi para os tratamentos que não continham agentes encapsulantes (p>0,01) comparado com os demais tratamentos que continham os agentes encapusulantes, argila e alginato. Para o teor de nitrato em comparação com a presença de incoculante, o

maior valor foi para o tratamento que continha o inoculante (p>0,01) comparado com o que não havia sido adicionado inoculante. A concentração de fosforo solúvel foi maior no tratamento que não continha agente encapsulante e que também não foi adicionado inoculante microbiano (p>0,01) (Tabela 10).

Tabela 10. Valores das atividades de desidrogenase, teores de amônio e nitrato, fósforo solúvel e carbono da biomassa microbiana e número de bactérias totais.

	Desidrogenase µg TFF g^{-1} SS 24h	µg $N–NH_4^+$ g^{-1} SS	µg $N\text{-}NO_3^-$ g^{-1} SS	P solúvel µg P/g^{-1} SS	CBM µg C/g^{-1} SS	UFC g^{-1} SS
Encapsulamento (E)						
Controle	304,41 a	87,50 a	61,83 a	4,19 a	17,90 a	$2,27.10^6$ a
Argila	297,10 a	80,50 ab	57,75 a	3,66 ab	15,23 a	$2,73.10^6$ a
Alginato	306,54 a	79,33 b	50,17 b	3,32 b	38,30 a	$2,10.10^6$ a
Test F	$0,20^{ns}$	4,30*	11,04**	7,27**	3,95*	$1,04^{ns}$
DMS (5%)	42,07	8,04	6,72	0,61	23,96	$1,20.10^6$
Inoculante (I)						
Com Micro	310,57 a	84,00 a	60,28 a	3,48 b	22,51 a	$2,45.10^6$ a
Sem Micro	294,80 a	80,89 a	52,89 b	3,96 a	25,11 a	$2,29.10^6$ a
DMS (5%)	28,05	5,36	4,48	0,41	15,98	7,99.106
Interação E x I						
Test F	$1,50^{ns}$	$1,60^{ns}$	12,89**	6,52*	$0,13^{ns}$	$0,19^{ns}$
CV (%)	9,02	6,33	7,71	10,68	65,33	32,85

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a (5%); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco; TFF= trifenilformazan; CBM= carbono biomassa microbiana; UFC= unidade formadora de colônia; DMS= Diferencia mínima significativa; C.V.= coeficiente de variação.

No desdobramento pela comparação com o agente encapsulante e a presença de inóculo microbiano para o teor de amônio, o maior valor foi para o tratamento que não continha agente encapsulante comparado com os demais tratamentos (p>0,05) (Tabela 11).

Tabela 11. Efeitos do fator de encapsulamento com relação ao inóculo, na quantificação de nitrogênio através da determinação de NH4+.

	µg $N–NH_4^+$ g^{-1} SS		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	87,50 a A	87,50 a A	0,00 ^{NS}
Argila	79,33 ab A	82,83 a A	0,30 ^{NS}
Alginato	75,83 b A	81,67 a A	2,70 ^{NS}
Teste F	3,95*	$1,05^{ns}$	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco

Para os tratamentos que continham agentes encapsulantes, o maior valor para o teor de nitrato foi para aquele que não continha agente encapsulante seguido da argila (p>0,01). Com relação à presença de inoculo microbiano o maior valor foi para o tratamento que continha o inóculo, também seguido do tratamento que continha argila (p>0,05) (Tabela 12).

Tabela 12. Concentração de NO3- nos tratamentos que receberam alginato, argila e controle com ou sem o inóculo microbiano.

	µg N-NO_3^- g^{-1} SS		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	57,17 a B	66,50 a A	6,85*
Argila	53,67 a B	61,83 ab A	5,25*
Alginato	47,83 a A	52,50 b A	1,71 ^{NS}
Teste F	3,50 ^{NS}	8,00**	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco

A concentração de fosforo solúvel obtida através do desdobramento da interação entre os agentes encapsulantes e a presença do inóculo microbiano, demostrou que os maiores valores se deram no tratamento que não continha nenhum agente encapsulante e que não foi adicionado o inóculo (p>0,01) (Tabela 13).

Tabela 13. Concentração de fósforo em µg P/g-1 solo seco nos tratamentos que receberam alginato, argila e controle com ou sem o inóculo microbiano.

	P solúvel µg $P/g^{-1}SS$		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	4,72 a A	3,66 a B	10,52**
Argila	3,60 b A	3,72 a A	$0,14^{NS}$
Alginato	3,57 b A	3,07 a A	$2,40^{NS}$
Teste F	8,10**	$2,44^{ns}$	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco

4.3 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo em mudas de Manga.

Os agentes encapsulantes juntamente com o inoculante microbiano não promoveram um maior desenvolvimento da planta de manga comparado com o tratamento controle (Tabela 14).

Tabela 14. Valores médios referentes à altura, diâmetro, matéria seca parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) da manga.

Tratamentos	**Altura**	**Diâmetro**	**MSPA**	**MSR**
Controle	13,16 b	0,30 a	2,27 a	0,99 a
Inóculo	16,33 a	0,26 a	1,99 a	O,72 a
Argila	11,83 b	0,31 a	2,10 a	0,77 a
Argila + Inóculo	15,66 a	0,28 a	2,66 a	0,97 a
Alginato	14,50 b	0,29 a	2,24 a	0,88 a
Alginato + Inóculo	17,00 a	0,32 a	2,95 a	1,29 a
C.V. (%)	16,79	20,05	35,12	56,25

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si; C.V.= Coeficiente de Variância.

Os valores interação principais entre os tratamentos não obtiveram diferença significativa para a concentração de fósforo solúvel, carbono da biomassa microbiano e numero total de bactérias (p<0,01). Para as atividades da desidrogenase o maior valor foi para o tratamento que continha alginato, seguida da argila com relação ao controle (p>0,05). Os teores de amônio foi maior para os

tratamentos que não continham inóculo microbiano e para o nitrato o maior valor se deu no tratamento que continha argila seguido pelo controle (p>0,01) (Tabela 15).

Tabela 15. Valores das atividades de desidrogenase, teores de amônio e nitrato, fósforo solúvel e carbono da biomassa microbiana e número de bactérias totais.

	Desidrogenase µg TFF g^{-1} SS 24h	µg $N–NH_4^+$ g^{-1} SS	µg $N\text{-}NO_3^-$ g^{-1} SS	P solúvel µg P/g^{-1} SS	CBM µg C/g^{-1} SS	UFC g^{-1} SS
Encapsulamento (E)						
Controle	191,75 b	71,17 a	43,75 ab	7,01 a	20,13 a	$2,86.10^6$ a
Argila	198,13 ab	72,92 a	46,67 a	7,22 a	24,08 a	$2,20.10^6$ a
Alginato	224,06 a	72,92 a	42,00 b	7,22 a	24,50 a	$2,19.10^6$ a
Test F	5,84*	$0,56^{NS}$	7,00**	$0,11^{NS}$	$0,33^{NS}$	$0,94^{NS}$
DMS (5%)	26,73	5,08	3,36	1,42	15,87	$1,52.10^6$
Inoculante (I)						
Com Micro	201,70 a	69,61 b	43,94 a	7,22 a	24,21 a	$2,50.10^6$ a
Sem Micro	207,60 a	75,06 a	44,33 a	7,08 a	21,60 a	$2,50.10^6$ a
DMS (5%)	17,82	3,39	2,24	0,94	10,58	1,02.106
Interação E x I						
Teste F	$0,52^{NS}$	12,25**	$0,14^{NS}$	$0,10^{NS}$	$0,29^{NS}$	$0,13^{NS}$
CV (%)	8,48	4,56	4,94	12,88	44,98	41,02

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a (5%); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco; TFF= trifenilformazan; CBM= carbono biomassa microbiana; UFC= unidade formadora de colônia; DMS= Diferencia mínima significativa; C.V.= coeficiente de variação.

No desdobramento dos valores da atividade da desidrogenase, o tratamento que continha alginato obteve maior valor, seguido da argila comparado ao controle (p>0,05), não obtendo diferença significativa com relação a presença ou não de inoculante microbiano (Tabela 16).

Tabela 16. Valores da atividade da desidrogenase.

	Desidrogenase µg TFF g^{-1} SS /24h		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	190,53 b A	192,98 a A	6,85*
Argila	198,83 ab A	197,44 a A	5,25*
Alginato	233,43 a A	214,70 a A	1,71 ^{NS}
Teste F	5,16*	1,31^{NS}	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05) ; significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco; TFF= trifenilformazan;

No desdobramento para os valores da concentração de amônio, o maior valor foi para o tratamento que não foi adicionado inóculo microbiano, comparado com os tratamentos que não receberam inóculo (p>0,05), os agentes encapsulantes não obtiveram diferença significativa (p>0,05) (Tabela 17).

Tabela 17. Efeitos do fator de encapsulamento com relação ao inóculo, na quantificação de nitrogênio através da determinação de NH4+.

	µg $N–NH_4^+$ g^{-1} SS		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	74,67 a A	67,67 a B	6,75*
Argila	73,50 a A	72,33 a A	0,19^{ns}
Alginato	77,00 a A	68,83 a B	9,19*
Teste F	0,88^{ns}	1,63^{ns}	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco

4.4 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo em mudas de Pitanga.

Os agentes encapsulantes juntamente com o inoculante microbiano não promoveram um maior desenvolvimento da planta de pitanga comparado com o tratamento controle (Tabela 18).

Tabela 18. Valores médios referentes à altura, diâmetro, matéria seca parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) da pitanga.

Tratamentos	**Altura**	**Diâmetro**	**MSPA**	**MSR**
Controle	7,0 a	0,31 a	2,09 a	0,74 a
Inóculo	15,50 a	0,21 a	2,49 a	0,81 a
Argila	12,33 a	0,27 a	3,55 a	0,86 a
Argila + Inóculo	23,66 a	0,25 a	2,79 a	1,03 a
Alginato	8,33 a	0,24 a	1,85 a	0,44 a
Alginato + Inóculo	9,16 a	0,23 a	2,25 a	0,69 a
C.V. (%)	67,24	13,57	34,51	53,08

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si; C.V.= Coeficiente de Variância.

Dentro os valores principais obtidos, os teores de amônio e nitrato, fósforo solúvel, carbono da biomassa microbiana e número total de bactérias não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ($p<0,05$). Para a atividade da desidrogenase o tratamento controle obteve maior valor seguido da argila com relação ao alginato ($p>0,05$) (Tabela 19).

Tabela 19. Valores das atividades de desidrogenase, teores de amônio e nitrato, fósforo solúvel e carbono da biomassa microbiana e número de bactérias totais.

	Desidrogenase µg TFF g^{-1} SS 24h	µg $N–NH_4^+$ g^{-1} SS	µg $N\text{-}NO_3^-$ g^{-1} SS	P solúvel µg P/g^{-1} SS	CBM µg C/g^{-1} SS	UFC g^{-1} SS
Encapsulamento (E)						
Controle	225,56 ab	73,50 a	40,83 a	8,10 a	50,12 a	$8,27.10^5$ a
Argila	249,69 a	69,42 a	42,00 a	9,43 a	49,17 a	$7,65.10^5$ a
Alginato	181,81 b	68,83 a	43,17 a	9,09 a	58,42 a	$8,83.10^5$ a
Test F	4,97*	$1,08^{NS}$	$0,46^{NS}$	$0,30^{NS}$	$0,81^{NS}$	$0,22^{NS}$
DMS (5%)	58,21	9,25	6,48	1,57	21,34	$4,74.10^5$
Inoculante (I)						
Com Micro	215,45 a	70,00 a	43,17 a	9,28 a	47,86 a	$9,03.10^5$ a
Sem Micro	222,60 a	71,17 a	40,83 a	9,07 a	57,28 a	$7,47.10^5$ a
Test F	$0,16^{NS}$	$0,17^{NS}$	$1,38^{NS}$	$0,19^{NS}$	$2,08^{NS}$	$1,16^{NS}$
DMS (5%)	38,82	6,17	4,32	1,04	14,23	$3,16.10^5$
CV (%)	17,25	8,51	10,01	11,10	26,35	37,31

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a (5%); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco; TFF= trifenilformazan; CBM= carbono biomassa microbiana; UFC= unidade formadora de colônia; DMS= Diferencia mínima significativa; C.V.= coeficiente de variação.

No desdobramento da interação da atividade da desidrogenase, o maior valor se deu para o controle seguido da argila com relação ao alginato (p>0,05) e com relação a presença de inóculo o maior valor foi entre o tratamento que continha alginato com inóculo comparo com o que não foi adicionado inóculo microbiano (p>0,05) (Tabela 20).

Tabela 20. Valores da atividade da desidrogenase.

	Desidrogenase µg TFF g^{-1} SS /24h		
	Sem Inoculante	Com Inoculante	Teste F
Sem encapsulamento	248,61 a A	202,52 a A	$2,23^{ns}$
Argila	274,39 a A	225,00 a A	$2,56^{ns}$
Alginato	144,79 b B	218,83 a A	5,76*
Teste F	9,89**	$0,28^{NS}$	

Média seguidas de mesma letra maiúscula para linhas e minúscula para colunas não diferem estatísticamente entre si (Tukey p>0,05); significativo a 0,05 (*) de probabilidade de erro, não significativo (ns). SS= solo seco; TFF= trifenilformazan;

5. DISCUSSÃO

A alteração da microbiota nativa do solo pode interferir de forma favorável ou desfavorável aos efeitos do uso de inoculante microbiano. De acordo com os valores obtidos através das medições de altura e diâmetro do caule (Tabela 1, Tabela 9, Tabela 14 e Tabela 18), o fato de não ter havido diferença significativa entre os tratamentos pode ter acontecido por alguns fatores como a idade das mudas utilizadas, a formulação do inoculante microbiano que continha sete tipos de bactérias e um fungo, pode ter alterado a microbiota natural e desfavorecido as ações benéficas entre os microrganismos para a planta, embora a busca por uma formulação seja necessária, afim de se chegar a um composto adequado, visto que a maioria dos eventos de controle biológico tem por resultado a mistura de antagonistas e não de somente um único tipo de microrganismo, por isso a mistura de diferentes microrganismos podem ter melhor resultado que somente a utilização de um único isolado (RAMAMOORTHY et al., 2001). Outro ponto relevante para a explicação dos dados obtidos seria a relação à faixa hospedeira, especificidade e

eficiência simbiótica (HARTWIG, 1998). Por exemplo, o genótipo da planta pode representar uma importância na seleção do microssimbionte (DEMEZAS et al., 1995; PAFFETTI et al., 1998).

Alguns trabalhos apontam resultados de respostas inversas ás esperados pelo uso de inoculantes e a quantidades de microrganismos nativos do solo, como por exemplo, os rizóbios nativos do solo (WEAVER; FREDERICK, 1974; THIES et al., 1991).

Uma hipótese levantada por alguns autores após observarem que a presença conjunta de alguns microrganismos resultou em raízes menores do que as testemunhas sem tratamento, enquanto em conjunto com outro microrganismo resultou em um aumento da massa da matéria seca das raízes, foi que uma das bactérias produza ácido indolacético (AIA) responsável por inibir o crescimento da raíz, onde os fitormônios podem ser benéficos em concentrações mais baixas, e prejudiciais em concentrações mais altas (ANTOUN et al., 1998).

O uso de rizobios, por exemplo, exibem várias características como promotoras de crescimento de plantas, tais como produção de sideróforos, solubilização de fosfatos, controle biológico de fitopatógenos e fixação de nitrogênio, segundo Gamo (1981), descreveu que ao utilizar *Azospirillum* a fixação de nitrogênio não foi suficiente para os benefícios de sua utilização no crescimento das plantas e sim a produção de fitormônios.

Os antibióticos são empregados para inibir a ação de fitopatogénos e por consequência promovem o crescimento vegetal, é produzido normalmente por bactérias do gênero *Bacillus* (BETTIOL, 1995). A composição de inoculante utilizado para os tratamentos das frutíferas tinha por objetivo alcançar o maior número de características que trazem benefícios ás plantas, garantindo um melhor desenvolvimento no crescimento da planta e também na produção e qualidade dos frutos, porém não houve resultado satisfatório observado através das medições biométricas e nem aos valores de matéria seca da parte aérea e raiz entre os tratamentos realizados.

Podem-se observar dentro dos resultados obtidos pelas analises químicas realizadas no solo onde as frutíferas foram cultivadas, que apesar de ter sido distribuída os mesmos tratamentos e os mesmos materiais aplicados nas mudas de araçá-boi, mamey, manga e pitanga, os valores obtidos foram discrepantes entre si. As mudas de araçá-boi responderam mais significativamente do que comparada as demais frutíferas, onde a idade das mudas utilizadas era menor, porém o processo de germinação das mudas de araçá-boi é muito maior, inibindo assim o resultado significativo entre os valores das medições de altura e diâmetro, visto que as mudas de mamey, manga e pitanga que foram escolhidas em condições de viveiro de mudas, estavam em tempo indescritível, o que pode ter atrapalhado nos resultados esperados aos tratamentos aplicados.

5.1 Efeito dos fatores de encapsulamento e inóculo na análise químicas do solo

As mudas de araçá-boi, mamey, manga e pitanga foram escolhidas em condições de viveiro, que os resultados pelos valores principais de cada uma das frutíferas demonstraram uma variabilidade entre as respostas de cada planta.

5.2 Atividade da enzima da desidrogenase

Os principais valores à atividade enzima da desidrogenase foram observados nas mudas de manga onde o tratamento que continha alginato obteve o maior valor que comparado aos demais tratamentos, não diferindo a presença ou não de inóculo (Tabela 15) e para as mudas de pitanga, os valores da atividade da enzima desidrogenase foi para o tratamento com argila sem diferir na presença ou não de inoculante (Tabela 16). Dentro do desdobramento desses valores para a atividade da desidrogenase nas mudas de araçá-boi o tratamento controle com a adição de inoculante foi maior do que o sem inculante, não havendo diferença entre os tratamentos com relação aos agentes encapsulantes (Tabela 3). Para as mudas de manga os maiores valores foram para os tratamentos que continha alginato sem inoculante microbiano (Tabela 15) e foi maior nas mudas de pitanga o tratamento que continha argila, sem diferir com a presença ou não de inoculante e sendo maior

no tratamento que continha alginato com inoculante comparado ao que não tinha inoculante (Tabela 20).

A enzima da desidrogenase faz parte da cadeia de transporte de elétrons, uma das etapas da respiração microbiana. A elevada atividade da desidrogenase sugere uma elevada atividade microbiana devido aos processos de oxirredução que quebram substâncias energéticas com a liberação de água e CO2, segundo Teixeira (2004) essa atividade demostrou-se como indicador para a atividade da mineração do solo, apesar de não ter sido detectada pela biomassa microbiana, onde através dos dados obtidos pode-se observar que em nem todas as espécies de frutíferas analisadas apresentaram diferença significativa. Atividade da enzima desidrogenase, também está envolvida com a ciclagem de nutrientes como o carbono e o nitrogênio do solo (CHODAK; NIKLIÑSKA, 2010), isso poderia explicar as diferenças entre os valores entre as frutíferas.

5.3 Teor de amônio e nitrato

Para os valores principais de amônio e nitrato, as mudas de araçá-boi e mamey, obtiveram diferença significativa. As mudas de araçá-boi os tratamentos que continham o alginato foram maiores com relação aos teores de amônio e nitrato do que com relação aos demais tratamentos e o teor de nitrato foram maiores nos tratamentos que receberam o inoculante microbiano (Tabela 2). Já o tratamento que não havia nenhum agente encapsulante nas mudas de mamey, foi o que obteve maior valor para os teores de amônio e nitrato (Tabela 10).

Nos desdobramentos dos valores, nas mudas de araçá-boi o alginato juntamento com o inoculante obteve maior valor (Tabela 4), sendo que com relação ao nitrato o maior valor para o tratamento que continha alginato sem inoculante (Tabela 5), nas mudas de mamey, os maiores valores para o teor de amônio foi para o tratamento controle sem inoculante (Tabela 11) e para o controle com inoculante para os teores de nitrato (Tabela 12) e nas mudas de manga foi maior o teor de amônio nos tratamentos que não continha inoculante.

Em geral, a maioria das plantas absorve nitrato e amônio, e não possuem dificuldade em seu desenvolvimento em ambientes ricos em nitratos (MALAVOLTA, 1980), porém existem plantas que preferem, no inicio de seu desenvolvimento, o nitrogênio disponível como amônio (NASCENTE et al. 2013d), onde as mudas como eram mantidas em condições de viveiros, sendo irrigadas diariamente, pode ter favorecido a atividade microbiológica através das ações de bactérias nitrificadoras, o teor de nutrientes em cada tipo de muda assim como a matéria orgânica que havia ali também influenciaram nesses valores. A variabilidade dos resultados se dá devido à qualidade de cada solo, com relação à atuação microbiológica nativa e a que foi inoculada em conjunto com a presença dos agentes encapsulantes, favorecendo ou não um aumento nos teores de amônio e nitrato.

5.4 Fósforo Solúvel

Os valores principais para as mudas de mamey apresentaram um maior valor na concentração de fósforo solúvel no tratamento controle e sem a dição de inoculante com relação aos demais tratamentos (Tabela 10).

No desdobramento dos valores para a concentração de fósforo, nas mudas de araçá-boi obteve a maior quando comparada entre agentes encapsulantes, foi para o tratamento que continha alginato sem inoculante e com relação à presença e ausência de inoculante o maior valor foi para o tratamento que havia inoculante (Tabela 6).

A composição microbiológica do inoculante utilizado continha microrganismos solubilizadores de fósforo, onde a aplicação do inoculante foi adicionada de forma direta, pode ter contribuído para uma melhor solubilização do fosforo presente naquele solo.

O fósforo encontra-se na forma de mineral no solo, e após uma sucessão de fatores uma parte deste fósforo é liberado para a solução do solo onde parte é adsorvida por alguns minerais secundários e outra é absorvida e incorporada pelos microrganismos, fazendo assim que ocorra um aumento na proporção de fósforo orgânico no solo, porém apenas uma parte pode ser aproveitada pela planta para seu desenvolvimento, parte é chamada “lábil” e é avaliada através de

extratores na análise do solo. Em geral nos solos, a solução do solo é muito baixa em concentração de nutrientes (BRAGA, 2009).

A utilização de agentes encapsulantes como alginato e argila, influencia nesse processo de disponibilização do fósforo, sendo a argila presente no solo e facilitando a passagens de íons e absorção de água e o alginato, por se tratar de um carboidrato, como fonte de nutrientes.

5.5 Carbono da biomassa microbiana

Nos valores através do desdobramento para a concentração de carbono da biomassa microbiana, o maior valor com diferença significativa foi em mudas de araçá-boi, no tratamento que continha alginato sem inoculante (Tabela 7).

A presença do alginato gerou a decomposição desse material, onde houve um processo de transformação da matéria orgânica pelos microrganismos do solo, por meio dos quais se podem mensurar a qualidade do solo, determinando-se os valores do carbono da biomassa microbiana (SPARLING, 1992). A qualidade do solo, nas demais frutíferas pode ter afetado a atividade microbiana, tanto nos tratamentos que continham agentes encapsulantes, quanto nos tratamento com presença ou ausência de inoculante microbiano, não permitindo assim uma variação significativa entre eles.

5.6 Número total de bactérias

O maior valor para o número total de bactérias foi observado somente após o desdobramento dos valores obtidos nas mudas de araçá-boi, no tratamento que recebeu alginato sem a adição do inoculante (Tabela 8).

Alguns gêneros e espécies dos microrganismos no solo são determinados pelas forças que atuam no ecossistema (CATTELAN; VIDOR 1990b; KIRCHNER et al. 1993) e os fatores ambientais podem influenciar o equilíbrio na comunidade bacteriana no solo, porém a relevância desse fatores com relação a determinação

das densidades das populações bacterianas no solo é difícil de ser definida, visto que estes geralmente estão associados e seus efeitos são difíceis de serem avaliados isoladamente (WARDLE; PARKINSON 1990). Assim, as diferenças no comportamento destas populações podem estar relacionadas com o estresse em que a amostra de solo foi submetida, ou a qualidade do solo onde as mudas foram cultivadas, onde os microrganismos presentes na microbiota nativa do solo utilizaram o alginato como fonte de nutriente, ocorrendo assim à diferença significativa quando comparado com os demais tratamentos.

Existe um problema muito relatado em trabalhos que avaliam a eficiência dos microrganismos promotores do crescimento de plantas que é com relação à variabilidade dos resultados. O que resta por resolver nos dias atuais seriam as causas dessa variabilidade, onde vários autores apontam uma explicação que se dá pela colonização das raízes das plantas, onde para interagir com as plantas, qualquer microrganismo deve se estabelecer na rizosfera (ANTOUN et al., 1998; DAVIES; WHITBREAD, 1989; JJEMBA; ALEXANDER, 1999). Já foi sugerido que diferenças na colonização radicular pelos microrganismos presentes nos inoculantes poderiam explicar a variabilidade dos resultados (WELLER; ZABLOTOWICZ, 1987).

Todavia, a mera colonização radicular por um isolado promotor do crescimento pode não garantir os benefícios à planta, pois necessita que as mesmas consigam alcançar uma quantidade populacional suficiente para a sobrevivência deles no solo. A sugestão aponta pelo presente trabalho a fim de diminuir as dificuldades de estabelecimento na rizosfera pelos microrganismos inoculados, seria melhor trabalhar com promotores de crescimento encapsulados, onde evitaria, pelo menos parcialmente, o efeito da competição com outros microrganismos nesse habitat reconhecidamente colonizado com tanta intensidade, visto que os agentes encapsulantes utilizados não promoveram interferências que prejudicam o desenvolvimento das culturas utilizadas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que apesar de não ter sido verificado um efeito de promoção de crescimento nas frutíferas utilizadas, os agentes encapsulantes com ou sem inóculos microbianos podem modificar alguns parâmetros químicos e microbiológicos do solo de forma positiva, sendo necessário o contínuo estudo a fim de se chegar a uma composição de inoculante adequada e melhorar a eficácia do inoculante microbiano e se esse pode ser utilizado em várias culturas, como por exemplo, as frutíferas utilizadas a fim de garantir um aumento da produção através dos benefícios causados por microrganismos promotores de crescimento e uma maior qualidade as frutas produzidas. A variabilidade observada através dos resultados das analises químicas demostram a importância em continuar as pesquisas a fim de se solucionar tais questões.

7. REFERÊNCIAS

ABBASI, M.K.; SHARIF, S.; KAZMI, M.; SULTAN, T. ASLAM M. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. **Plant Biosystems**, p. 145-159, 2008.

Agricultura de precisão, Boletim técnico, M.A.P.A. Ministério da agricultura pecuária e abastecimento, Brasília, 2014.

ALBAREDA, M.; RODRIGUEZ-NAVARRO, D.N.; CAMACHO, M.; TEMPRANO, F.J. Alternatives to peat as a carrier for rhizobia inoculants: solid and liquid formulations. **Soil Biology and Biochemistry**, v.40, p.2771-2779, 2008.

ANTOUN, H.; BEAUCHAMP, C.J.; GOUSSARD, N.; CHABOT, R.; LALANDE, R. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effects on radishes (*Raphanus sativus* L.). **Plant Soil**, v. 204, p. 57–67, 1998.

ARAÚJO, F. F. Rizobactérias e indução de resistência a doenças em plantas. Parte II – Micro-organismos Promotores de Crescimento em Plantas. In: FIGUEIREDO, M. do V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. Micro-organismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para agricultura. 1. ed. Guaíba, **Agrolivros**, p. 197-210, 2008.

ASSIS, S.M.P.; MARIANO, R.L.R.; MICHEREFF, S.J.; SILVA, G.; MARANHÃO, E.A.A. Antagonism of *Bacillus* spp. to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on cabbage phylloplane in field. Anais, 40 **International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria**, Sapporo, Japan, p.345-348, 1997.

ASSIS, S.M.P. *Heliconia psitacorum* L.f. – Doenças, pragas e utilização de rizobactérias na promoção de crescimento. (Tese de Doutorado). Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2002.

BALDANI, J.I.; TEIXEIRA, K.R.S.; SCHWAB, S.; OLIVARES, F.L.; HEMERLY, A.S.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M.; NOGUEIRA, E.M.; ARAÚJO, J.L.S.; BALDOTTO, L.E. B.; SOARES, L.H.B.; VINAGRE, F.; BALDANI, V.L.D.; CARVALHO, T.L.G.; ALVES, B.J.R.; JAMES, E.K.; JANTALIA, C.P.; FERREIRA, P.C.G.; VIDAL, M.S. & BODDEY, R.M. Fixação biológica de nitrogênio em plantas da família

da *Poaceae* (antiga *Gramineae*). In: RIBEIRO, M.R.; NASCIMENTO, C.W.; RIBEIRO FILHO, M.R. & CANTALICE, J.R.B., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v.6, p.203-271, 2009.

BAKER, A.J.M. Metal tolerance. **New Phytology**, v.106, p.93-111, 1987.

BARBOSA, J.C; MALDONADO JR, W. AgroEstat. Sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. Versão 1.0. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" –Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

BASHAN, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotecnology Advances,** New York, v.16, n.4, p.729-770, 1998.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. Plant Growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. **Trees**, v.16, p. 159-166, 2002.

BRAGA, N.R. Eficiência agronômica de nove fosfatos em quatro cultivos consecutivos de soja. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 4, p. 315-319, 2009.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A.M.; LIMÓN, M.C.; CODÓN, A.C. Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. **International Microbiology,** v. 7, p.249-260, 2004.

BERGERSEN, F.J. Methods for biological nitrogen fixation. New York, **John Wiley & Sons**, 1980. 702p.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. In: Manual de Fitopatologia. BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; KIMATI, H. (Eds). Jaguariúna, São Paulo, **EMBRAPA CNPMA**, 1998, 264 p.

BUCHER, C.A.; REIS, V.M. Biofertilizante contendo bactérias diazotróficas. Seropédica: **Embrapa Agrobiologia**, 17p.,2008.

CANTARELLI, C., BRENNA, O., GIOVANELLI, G., ROSSI, M. Beverage stabilization through enzymatic removal of phenolics. **Food Biotech**, v.3, p. 203-213, 1989.

CATTELAN, A.J. & VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. R. **Brasil Ciência do Solo**, v.14, p.125- 132, 1990

CATTELAN, A. J. Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Londrina: **Embrapa Soja**, 1999. 36 p.

CASIDA Jr., L.E. Microbial metabolic activity in soil as measured by dehydrogenase determinations. **Applied and Environmental Microbiology**, v.34, p.630-636, 1977.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. Azospirillum brasilense Az39 and Bradyrhizobium japonicum E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (Zea mays L.) and soybean (Glycine max L.). **European Journal of Soil Biology,** p. 45:28–35, 2009.

CHAMPAGNE C.P.; FUSTIER P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods.**Current Opinion in Biotechnology**, v.18, p.184-190, 2007.

CHANG, S.-B. R.; KIRSMVMC, J. L. Possible biogenic magnetite fossils from the Miocene marine clay of Crete. In Magnetite Biomineralization and Magnetoreception in Organisms, Edited by J. L. Kirschvink, D. S. Jones & B. J. McFadden. New York, **Plenum Press**, p. 647-669, 1985.

CHAUHAN, H.; BAGYARAJ, D.J.; SHARMA, A. Plant growth promoting bacterial endophytes from sugarcane and their potential in promoting growth of the host under field conditions. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v.49, p.43-52, 2013.

CHODAK, M.; NIKLINSKA, Y M. The effect of different tree species on the chemical and microbial propertios of reclaimed mine soils,**Biol Fertild Soils**, v.46, p. 555-566 2010.

CHODAK, M.; NIKLIÑSKA, M. Effect of texture and tree species on microbial properties of mine soils. **Applied Soil Ecology**, v. 46, p. 268-275, 2010.

COOPER, J.E. Early interactions between legumes and rhizobia: disclosing complexity in a molecular dialogue. **Journal of Applied Microbiology**, p. 103:1355–65, 2008.

DAVIES, K. G.; WHITBREAD, R. A comparison of methods for measuring the colonisation of a root system by fluorescent Pseudomonads. **Plant and Soil,** v.116, p.239–246, 1989.

DESAI, K.G.H.; PARK, H.J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v.23, p.1361-1394, 2005.

FARIAS NETO, A.L.; SCHMIDT, M.; HARTMAN, G.L.; LI, S.; DIERS, B.W. Inoculation methods under greenhouse conditions for evaluating soybean resistance to sudden death syndrome. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.43, n.11, 2008.

FÁVARO-TRINDADE, C.S. et al. Revisão: microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.11, p.103-112, 2008.

FERREIRA, E.P.; DUSI, A.N.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. Rhizosphere bacterial communities of potato cultivars evaluated through PCR-DGGE profiles. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.605-612, 2008.

FILIPPI, M.C.C.; DA SILVA, G.B.; SILVA-LOBO, V.L.; CÔRTES, M.V.C.B.; MORAES, A.J.G.; PRABHU, A.S. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. **Biological Control**, v. 58, p.160–166, 2011.

FISCHER, S.E.; FISCHER, S.I.; MAGRIS, S.; MORI, G.B. Isolation and characterization of bacteria from the rhizosphere of wheat. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p.895–903, 2007.

GAMO, T. Azospirillum spp. from crop roots: A promoter of plant growth. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 24, n. 4, p. 253-259, 1991.

GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B.; MESQUITA, J.C.P. Isolamento, seleção de bactérias e efeito de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. Horticultura Brasileira, v. 21, p. 699-703, 2003.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal ofexisting technologies and trends. **Trends Food SciencesTechnology**, v.15, n.7-8, p.330-347, 2004.

HARMAN, G.E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v.96, p.190-194, 2006.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Reviews. Microbiology**, v.2, p.43-56, 2004.

HARTWIG J.H.; BOKOCH,G.M.; CARPENTER,C.L.; JANMEY,P.A.; TAYLOR,L.A.; TOKER, A.; STOSSEL,T.P. Thrombin receptor ligation and activated Rac uncap actin filament barbed ends through phosphoinositide synthesis in permeabilized human platelets. **Cell**, v.82, p.643–653, 1995.

HAUMAERTS, D. A major chemotaxis gene cluster in *Azospirillum brasilense* and relationships between chemotaxis operons in alfa-proteobacteria. **FEMS Microbiology Lethers,** Amsterdan, v. 208, p. 61-67, 2002.

HECHT-BUCHHOLZ, C. The apoplast-habitat of endophytic dinitrogen-fixation bacteria and their significance for the nitrogen nutrition of nonleguminous plants. *Z. Pflanzenernähr.* **Bodenk**, v.161, p.509-520, 1998.

HEIJNEN, C.E; VAN VEEN, J.A. A determination of protective microhabitats for bacteria introduced into soil. **FEMS Microbiology Letters**, v. 85, p. 73–80, 1991.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (Phaseolus vulgaris L.) by *Trichoderma*. **Bioligical Control**, v.51, p.409–416, 2009.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja:** componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina:

Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283). (ISSN 1516-781X; N 283).

IBGE, Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2211&id_pagina=1. Acesso em 13 fevereiro 2016.

JJEMBA, P.K.; ALEXANDER, M. Possible determinants of rhizosphere competence of bacteria. **Soil Biology Biochemistry**, v.31, p.623-632, 1999.

JAMES, E.J.; REES, D.C. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbioses. **Field Crops Research,** Amsterdam, v.65, p.197-209, 2000.

KEENEY, D. R.; NELSON, D. W. Nitrogen in organic forms. In A. L. Page et al., Eds. Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy, n.9, **American Society of Agronomy**, Madison, 1982.

KIM, H. Vacuolar H+-ATPase (V-ATPase) promotes vacuolar membrane permeabilization and nonapoptotic death in stressed yeast. **Journal Biology Chemistry** v.287, n.23, p.19029-39, 2012.

KING, A.H. Encapsulation of food ingredients. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. Washington, **DC: ACS**, p.26-39, 1995.

KIRCHHOF, G. Occurrence, physiological and molecular analysis of endophytic diazotrophyc bacteria in gramineous energy plants. **Plant and Soil,** The Hagne, v. 194, p. 45-55, 1997.

KIRCHNER, M.J.; WOLLUM, A.G.; KING, L.D. Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal,** Madison, v.57, p.1289-1295, 1993.

KHALID, A.; TAHIR, S.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z.A. Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils. **Soil Research**, v.42, p. 921–926, 2004.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: Proceedings of the IV th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. **Station de Pathologie Vegetale et Phyto-Bacteriologie**, v.2, p. 879–882, 1978.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm, 1928.

KREY, T.; VASSILEV, N.; BAUM, C.; EICHLER-LÖBERMANN, B. Effects of long-term phosphorus application and plant-growth promoting rhizobacteria on maize phosphorus nutrition under field conditions. **European Journal of Soil Biology,** v. 55, p.124–130, 2013.

LUNA, C.L.; MARIANO, R.L.R; SOUTO-MAIOR, A.M. Production of a biocontrol agent for crucifers black rot disease. **Brazilian Journal of Chemical Engineering,** v.19, p.133-140, 2002.

LUZ, W.C. Controle microbiológico do mal-do-pé do trigo pelo tratamento de sementes. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, p.82-85, 1993ª.

LUZ, W.C. Efeito da microbiolização de sementes no rendimento e controle da podridão comum das raízes e de patógenos das sementes de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, p.144-148, 1994.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A.. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2 ed. **POTAFOS,** Piracicaba, 1997. 319p.

MARTINS, M.A.; GONÇALVES, G.F.; SOARES, A.C.F. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares associados a compostos fenólicos, no crescimento de mudas de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.7, p. 1465-1471, 2000.

MENDONÇA, E.S.; MATOS, E.S. Matéria orgânica do solo; métodos de análises. **EMBRAPA**. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2005. 107p.

NASCENTE, A. S.; CRUSCIOL, C. A. C.; COBUCCI, T. The no-tillage system and cover crops: alternatives to increase upland rice yields. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 45, n. 1, p. 124-131, 2013d.

PAFFETTI, D.; DAGUIN, F.; FANCELLI, S.; GNOCCHI, S.; LIPPI, F.; SCOTTI, C.; BAZZICALUPO, M. Influence of plant genotype on the selection of nodulating Sinorhizobium meliloti strains by Medicago sativa. **Antonie Van Leeuwenhoek,** v.73, p.3–8, 1998.

PANDEY, P.; MAHESHWARI, D.K. Bioformulation of *Burkholderia* sp. MSSP with a multispecies consortium for growth promotion of *Cajanus cajan*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.53, p.213-222, 2007.

PASSOS, C.T. **Estudo da biodegradação do fenol por uma nova linhagem de *Aspergillus sp***. 2006. 84f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2006.

PEIX, A.; MATEOS, P.F.; RODRÍGUEZ-BARRUECO, C.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; VELÁZQUEZ, E. Growth promotion of common bean *(Phaseolus vulgaris L.)* by a strain of *Burkholderia cepacia* under growth chamber conditions. **Soil Biology and Biochemistry, v.**33, p.1927–1935, 2001.

RAIJ, B. VAN; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; FERREIRA, M.E.; LOPES, A.S. & BATAGLIA, O.C. Análise química do solo para fins de fertilidade. Campinas, **Fundação Cargill**, 1987. 170p.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Prot**, v.20, p.1–11, 2001.

RAMOS, H.J.O. Monitoring *Azospirillum* – wheat interaction using the glp and gusA genes constitutively expressed from a new broad-host range vector. **Journal of Biotecnology**, Amsterdam, v.97, p.243-252, 2002.

RASHEDUL, I.M.; MADHAIYAN, M.; DEKA BORUAH, H.P.; YIM, W.; LEE, G.; SARAVANAN, V.S. Characterization of plant growth-promoting traits of free-living diazotrophic bacteria and their inoculation effects on growth and nitrogen uptake of crop plants. **Journal of Microbiology and Biotechnology,** v.19, p.1213–1222, 2009.

RIBEIRO, M.S. **Estudo da produção de fosfatase ácida por *Trichoderma harzianum.*** 2010. 65f. Dissertação- Universidade Federal de Góias, Goiânia, 2010.

RIGGS, P.J.; CHELIUS, M.K.; INIGUEZ, A.L.; KAEPPLER, S.M.; TRIPLETT, E.W. Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. **Australian Journal of Plant Physiology,** v.28, p.829–836, 2001.

SALLES, J.F.; OLIVEIRA, A.L.M.; PERIN, L.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I. Resposta de plantas micropropagadas de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas. **Agronomia**, v.37, p.67-72, 2014.

SHEU, T.Y.; MARSHALL, R.T.; HEYMANT, H. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. **Journal Dairy Science,** v.76, p.1902-1907, 1993.

SHI, Z.M. Technology for conidial preparation of *Beauveria bassiana.* In: Li, Y.W., Li, Z.Z., Liang, Z.Q., Wu, J.W., Wu, Z.K. and Xu, Q.F. (eds) Study and Application of Entomogenous Fungi in China, Vol. 1. **Academic Periodical Press**, Beijing, p.114–115, 1988.

SILVA, L.F.C.; SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teores de nutrientes de mudas de abacateiro, mangueira e mamoeiro sob influência de diferentes espécies de fungos micorrízicos vesículoarbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.15, n. 3, p.283-288, 2009.

SIQUEIRA, J.O., FRANCO, A.A. Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas. Brasília: MEC Ministério da Educação, ABEAS, Lavras: ESAL, FAEPE, 1988. 236p.

TAJINI, F.; TRABELSI, M.; DREVON, J.J. Combined inoculation with Glomus intraradices and Rhizobium tropici CIAT899 increases phosphorus use efficiency for symbiotic nitrogen fixation in common bean *(Phaseolus vulgaris L.)*. **Saudi Journal of Biology Sciences,** v.19, p.157–163, 2012.

TEIXEIRA, T.T. Aplicação de lodo de estação de tratamento de água em solo degradado por mineração de cassiterita. 2004. 85p. Tese (Doutorado - Curso de Agronomia) - FCAV/UNESP, Jaboticabal.

THIES, J.E.; BOHLOOL, B.B.; SINGLETON, P.W. Subgroups of the cowpea mescellany: symbiotic specificity within*Bradyrhizobium* spp. for *Vigna*

unguiculata, *Phaseolus lunatus*, *Arachis hypogea* and *Macroptilium atropurpureum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.1540-1545, 1991.

WARDLE, D.A.; PARKINSON, D. Interactions between microclimatic variables and the soil microbial biomass. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.9, n.3, p.273-280, 1990.

WATANABE, F.; OLSEN, S.R. Test of an ascorbic acid method for determining P in water and sodium bicarbonate extracts from soil. **Soil Sciences Society of America, Proceendings,** v. 29, p.677-678, 1965.

WEAVER, R. W.; FREDERICK, L. R. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of Glycine max L. Merrill. II. Field studies. **Agronomy Journal**, v.66, p.233-236, 1974.

WELLER, D. M.; ZABLOTOWICZ, R. Recent results from field and greenhouse trials on biological controls of diseases with obvious visual and typical symptoms. In: FIRST INTERNATIONAL WORKSHOP ON PLANT GROWTH-PROMOTING RHIZOBACTERIA, I. Orillia. Proceedings. Orillia: Kloepper, J. p. 10-16, 1987.

WOLLUM, A.G.; PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Ed.).Methods of soil analysis. Madison : **Soil Science Society of America**, 1982. p.781-802.

WYNDHAM, R.C.; CASHORE, A.E.; NAKATSU, C.H.; PEEL, M.C. Catabolic transposons. **Biodegradation,** v.5, p.323-342, 1986.

YASMIN, S.; BAKAR, M.A.R.; MALIK, K.A.; HAFEEZ, F.Y. Isolation, characterization and beneficial effects of rice associated plant growth promoting bacteria from Zanzibar soils. **Journal of Basic Microbiology,** v.3, p. 241–252, 2004.

YU, X.M.; AI, C.X.; XIN, L.; ZHOU, G.F. The siderophore-producing bacterium, Bacillus subtilis CAS15, has a biocontrol effect on Fusarium wilt and promotes the growth of pepper. **European Journal of Soil Biology,** v.47, p.138–145, 2011.