

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ECOGENÔMICA DE SOLOS AGRÍCOLAS E POTENCIAL DE
RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE
PLANTAS (RPCP) VOLTADOS À CULTURA DO CULTIVO
DO ALHO (*Allium sativum*)**

Higor de Oliveira Alves

Biólogo

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ECOGENÔMICA DE SOLOS AGRÍCOLAS E POTENCIAL DE
RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE
PLANTAS (RPCP) VOLTADOS À CULTURA DO CULTIVO
DO ALHO (*Allium sativum*)**

Higor de Oliveira Alves

Orientador: Prof. Dr. Jackson Antônio Marcondes de Souza

Tese apresentada a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Microbiologia Agropecuária.

A474e

Alves, Higor de Oliveira

Ecogenômica de solos agrícolas e potencial de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) voltados à cultura do cultivo do alho (*Allium sativum*) / Higor de Oliveira Alves. -- Jaboticabal, 2025

96 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Jackson Antônio Marcondes de Souza

1. Fixação biológica de nitrogênio. 2. Bactérias. 3. Metagenômica. 4. Hormônios vegetais. 5. Controle biológico. I. Título.

Registro de impacto

Esta pesquisa contribui para a agricultura brasileira ao investigar rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de alho, visando práticas agrícolas mais sustentáveis. O uso dessas bactérias reduz a dependência de fertilizantes e pesticidas, minimizando impactos ambientais e custos de produção. Economicamente, a identificação de rizobactérias eficientes pode aumentar a competitividade do Brasil no mercado global, melhorando a produtividade de culturas como alho, soja e milho. Cientificamente, a pesquisa expande o conhecimento sobre a diversidade genética dessas bactérias, oferecendo novas possibilidades para o uso de bioprodutos naturais no controle de patógenos e aumento da eficiência agrícola.

Impact record

This research contributes to Brazilian agriculture by investigating plant growth-promoting rhizobacteria in garlic cultivation, aiming for more sustainable farming practices. The use of these bacteria reduces reliance on fertilizers and pesticides, minimizing environmental impacts and production costs. Economically, identifying efficient rhizobacteria can increase Brazil's competitiveness in the global market, improving the productivity of crops like garlic, soy, and corn. Scientifically, the research expands knowledge on the genetic diversity of these bacteria, offering new possibilities for the use of natural bioproducts in pathogen control and enhancing agricultural efficiency.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ECOGENÔMICA DE SOLOS AGRÍCOLAS E POTENCIAL DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS (RPCP) VOLTADOS À CULTURA DO CULTIVO DO ALHO (*Allium sativum*)

AUTOR: HÍGOR DE OLIVEIRA ALVES

ORIENTADOR: JACKSON ANTONIO MARCONDES DE SOUZA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JACKSON ANTONIO MARCONDES DE SOUZA (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
JACKSON ANTONIO MARCONDES DE SOUZA
Data: 06/03/2025 09:28:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Documento assinado digitalmente
 **RAQUEL OLIVEIRA MOREIRA**
Data: 07/03/2025 08:04:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisadora Dra. RAQUEL OLIVEIRA MOREIRA (Participação Virtual)
Departamento PD&I / Conatus Industria e Comercio de Produtos Quimicos Ltda - Mogi/Guaçu

Documento assinado digitalmente
 **JARDEL DIEGO BARBOSA RODRIGUES**
Data: 07/03/2025 09:27:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós-Doutorando JARDEL DIEGO BARBOSA RODRIGUES (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal

Profa. Dra. PATRICIA AMOROSO DE ANDRADE (Participação Virtual)
Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB) / Barretos/SP

Documento assinado digitalmente
 **PATRICIA AMOROSO DE ANDRADE**
Data: 09/03/2025 17:00:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós-Doutorado THIERRY ALEXANDRE PELLEGRINETTI (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Celular e Molecular / CENA USP Piracicaba/SP



Documento assinado digitalmente

THIERRY ALEXANDRE PELLEGRINETTI

Data: 07/03/2025 10:56:15-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 05 de março de 2025

DADOS CURRÍCULARES DO AUTOR

Higor de Oliveira Alves, nascido dia 18 de junho de 1996 na cidade de Miguelópolis – SP. Técnico em Agropecuária pela E.T.E.C Laurindo Alves de Queiroz (2013). Licenciado em Biologia pelo Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB (2017). Mestre em Microbiologia Agropecuária pela Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Durante a graduação participou do projeto interdisciplinar do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação à Docência – PIBID, trabalhando com projetos voltados a Física e Biologia, na ocasião, na escola Benedito Pereira Cardoso Professor (2016 – 2018). Atualmente é doutorando no programa de Microbiologia Agropecuária, com dedicação exclusiva, na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal (UNESP - FCAV), atuando na linha de pesquisa Genética Molecular de Microrganismos. Tem experiência na área de microbiologia geral, tendo atuado principalmente nos seguintes temas: controle biológico de grandes pragas e prospecção de microrganismos entomopatogênicos. Atualmente desenvolve pesquisas na área de Microbiologia Agropecuária, na prospecção e inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas.

“Só há felicidade se não exigirmos nada do amanhã e aceitarmos do hoje, com gratidão, o que nos trazer. A hora mágica sempre chega.”

(Hermann Hesse)

Dedico este trabalho a minha amada mãe Raquel;
Ofereço a minha amada avó Laide (*in memorian*),
e ao meu amado irmão Alex (*in memorian*), os três
nunca mediram esforços para que eu conseguisse
alcançar meus objetivos, sempre me amparando e
dando forças para continuar em todos os momentos.

Dedico a todos os meus amigos que jamais me
deixaram desistir e sempre acreditaram na minha
capacidade e força de vontade.

Dedico a todos aqueles que por algum motivo não
tiveram a mesma oportunidade de estar aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora de Aparecida, por estarem ao meu lado sempre.

A minha mãe Raquel que, com muito empenho, sempre se sacrificou para que os meus sonhos fossem realizados.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Jackson Antônio Marcondes de Souza pela paciência durante os momentos de orientação, pelas risadas e boas conversas.

Aos meus melhores amigos por sempre me darem suporte em qualquer circunstância.

Ao programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária pelo suporte durante a realização do projeto de doutorado.

Ao pessoal do Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada, que tornaram essa caminhada mais alegre. Obrigado por todos os momentos de alegria e descontração vividos.

Ao Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada, a Prof. Dra. Janete Aparecida Desidério e ao Prof. Dr. Manoel Victor Franco Lemos por me concederem a estrutura e materiais utilizados durante a realização do projeto.

Ao Departamento de Biologia e todo o seu corpo de funcionários pelo suporte e materiais utilizados durante a realização do projeto.

A Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, por toda sua estrutura.

Ao Cena/USP (Centro de Energia Nuclear Na Agricultura), por toda sua estrutura.

A Professora Tsai Siu Mui, seus colaboradores e orientados de laboratório, por me concederem o auxílio, estrutura e materiais utilizados durante parte da realização do projeto.

Aos amigos que fiz.

Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERÊNCIALTEÓRICO.....	3
2.1 Produção agrícola no Brasil.....	3
2.2 Consequências ambientais da monocultura em solo brasileiro.....	4
2.3 Alho (<i>Allium sativum</i>).....	6
2.4 Desafios para a produção da cultura de alho no Brasil.....	7
2.5 Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e a fixação biológica de nitrogênio.....	9
2.6 A bioinformática aplicada na agricultura.....	14
3. OBJETIVOS.....	17
3.1 Objetivo geral.....	17
3.2 Objetivos específicos.....	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
4.1 Origem e obtenção das amostras de solo para análise metagenômica.....	18
4.2 Análise físico-química do solo.....	18
4.3 Extração e sequenciamento de DNA total das amostras de solo.....	18
4.4 Pré-processamento dos dados genômicos e Afiliação taxonômica.....	18
4.5 Análise de anotação funcional.....	19
4.6 Recuperação de genomas do metagenoma.....	20
4.7 Origem, obtenção e construção de biblioteca de isolados bacterianos.....	21
4.8 Caracterização morfológica bacteriana.....	22
4.9 Caracterização bioquímica dos isolados.....	22
4.9.1 Produção de acidoindolacético (AIA).....	23
4.9.2 Solubilização de fosfato.....	23
4.10 Ensaio com plantas: influência dos microrganismos no crescimento de soja, milho e alho.....	24
4.11 Extração de DNA genômico.....	24
4.12 Reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação do gene 16s rRNA dos isolados selecionados.....	25

4.13 Purificação, sequenciamento e análise de dados dos genes <i>16s rRNA</i>	25
5. RESULTADOS.....	26
5.1 Análise físico-química do solo.....	26
5.2 Afiliação taxonômica e diversidade das amostras de solo de cana-de-açúcar e alho.....	29
5.3 Anotação funcional de genes envolvidos na promoção do crescimento de plantas.....	32
5.4 Genomas recuperados de metagenomas e perfil funcional.....	34
5.5 Caracterização morfológica dos isolados da biblioteca de isolados construída.....	39
5.6 Caracterização bioquímica dos isolados da biblioteca de isolados construída.....	45
5.7 Ensaio com plantas: influência dos microrganismos no crescimento de soja, milho e alho.....	47
5.8 Caracterização parcial do gene <i>16S rRNA</i> dos 5 isolados escolhidos para teste em casa de vegetação.....	49
6. DISCUSSÃO.....	49
7. CONCLUSÃO.....	62
8. REFERÊNCIAS.....	63

RESUMO

O Brasil se destaca como um dos principais produtores agrícolas, tanto no cenário nacional quanto global. Conforme projeções de produção de grãos, cereais e leguminosas, espera-se que a produção atinja mais de 308 milhões de toneladas em 2024. O alho é amplamente utilizado no mundo inteiro, especialmente como tempero aromático em diversas receitas. Além de seu uso culinário, o alho tem sido empregado na medicina tradicional desde a antiguidade, devido às suas propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antienvhecimento e anticancerígenas, além de apresentar benefícios no tratamento de diabetes e outras doenças. As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas são microrganismos que favorecem diretamente o desenvolvimento das plantas ao liberar fitormônios em suas raízes e vasos condutores, fixar nitrogênio e solubilizar fosfatos, além de exercerem efeitos benéficos indiretos, como a inibição de parasitas e patógenos em diversas culturas. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a diversidade genética e funcional, com base em metagenômica, e realizar a bioprospecção de isolados de solo de cultivo de alho com capacidade de promover o crescimento de plantas. Os isolados foram submetidos a testes morfológicos e bioquímicos para selecionar as bactérias mais promissoras para experimentos em casa de vegetação. Os cinco melhores isolados foram inoculados em soja, alho e milho, e os parâmetros avaliados após a colheita mostraram resultados dentro dos padrões da testemunha positiva. Em seguida, realizou-se a caracterização parcial dos isolados com o gene 16S rRNA, identificando-os em dois gêneros distintos. Todos os testes *in vivo* foram realizados no Laboratório de Genética Aplicada, no Departamento de Biologia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, SP, Brasil.

Palavras-chave: Agricultura, Biofertilizante, Metagenoma, Rizobactéria

ABSTRACT

Brazil stands out as one of the leading agricultural producers, both nationally and globally. According to projections for grain, cereal, and legume production, it is expected that the production will reach over 308 million tons by 2024. Garlic is widely used around the world, particularly as an aromatic seasoning in various recipes. In addition to its culinary use, garlic has been employed in traditional medicine since ancient times due to its antimicrobial, antifungal, anti-aging, and anticancer properties, as well as its benefits in the treatment of diabetes and other diseases. Plant growth-promoting rhizobacteria are microorganisms that directly benefit plants by releasing phytohormones into their roots and vascular systems, fixing nitrogen, and solubilizing phosphates, in addition to providing secondary beneficial effects such as inhibiting parasites and pathogens in various crops. The aim of this study was to investigate the genetic and functional diversity based on metagenomics and conduct the bioprospecting of isolates from garlic cultivation soil with plant growth-promoting abilities. The isolates were subjected to morphological and biochemical tests to select the most promising bacteria for experiments in a greenhouse. The five best isolates were inoculated into soybeans, garlic, and corn, and the parameters evaluated after harvest were found to be within the normal range compared to the positive control. A partial characterization of the isolates was then carried out using the 16S rRNA gene, classifying them into two distinct genera. All in vivo tests were conducted at the Applied Genetics Laboratory, Department of Biology, São Paulo State University, Jaboticabal Campus, SP, Brazil.

Keywords: Agriculture, Biofertilizer, Metagenome, Rhizobacteria

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Afiliação taxonômica comparativa e índices de diversidade envolvendo as amostras agricultáveis de solo de cana-de-açúcar e alho, respectivamente.....	30
Figura 2: Figura 2. Análise de abundância diferencial entre os solos de cultivo de cana-de-açúcar e alho.....	32
Figura 3: Perfil funcional dos solos de cultivo de cana-de-açúcar e alho.....	34
Figura 4: Árvore filogenética baseada na análise de máxima verossimilhança de genomas montados a partir de metagenomas (MAGs).....	36
Figura 5: Heatmap representando anotações de características em genomas montados a partir de metagenomas (MAGs).....	37
Figura 6: Heatmap detalhada de características funcionais microbianas em genomas montados a partir de metagenomas (MAGs).....	38
Figura 7: Heatmap detalhada de características funcionais microbianas em genomas montados a partir de metagenomas (MAGs).....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Análise física das amostras de solo de alho e cana-de-açúcar, respectivamente.....	26
Tabela 2: Análise química de solo de macronutrientes presentes em amostras de alho e cana-de-açúcar, respectivamente.....	28
Tabela 3: Análise química de solo de micronutrientes presentes em amostras de alho e cana-de-açúcar, respectivamente.....	28
Tabela 4: Morfologia de bactérias isoladas do meio Tryptone yeast (TY).....	41
Tabela 5: Morfologia de bactérias isoladas do meio Kuster e Willians (KW).....	42
Tabela 6: Morfologia de bactérias isoladas do meio Trypticase Soy Broth (TSB)....	43
Tabela 7: Morfologia de bactérias isoladas do meio Bunt e Rovira (BR).....	44
Tabela 8: Morfologia de bactérias isoladas do meio Agar Nutriente (AN).....	45
Tabela 9: Resultados dos testes de solubilização de fosfato e produção de ácido indolacético (AIA).....	46
Tabela 10: Comparação de Médias entre os diferentes tratamentos para Massa Seca.....	47
Tabela 11: Comparação de Médias entre os diferentes tratamentos para Massa Fresca.....	48
Tabela 12: Comparação de Médias entre os diferentes tratamentos para o comprimento das plantas.....	49
Tabela 13: Caracterização parcial do gene <i>16S rRNA</i> de isolados do solo utilizados durante os experimentos em casa de vegetação.....	49

1. INTRODUÇÃO

O alho é um vegetal aromático consumido mundialmente na preparação de pratos. Além disso, ao seu consumo como alimento, o alho possui diversas propriedades biológicas relacionadas à saúde, como antidiabético, antioxidante, anticancerígeno, antibacteriano, antifúngico e atividades anti-hipertensivas. Estas propriedades são possíveis através dos seus fitoconstituintes, o alho apresenta diversos constituintes químicos, entre eles compostos contendo enxofre, como tiossulfatos, ajenos, vinilditinas e sulfetos (Batiha et al., 2020).

O Brasil é uma potência mundial em produção agrícola, dados do IBGE (2024) indicam que a produção total de grãos, cereais e leguminosas em 2024 deverão atingir recordes, com produção estimada em torno 308 milhões de toneladas (IBGE, 2024). Mesmo assim, o mercado brasileiro da cultura do alho depende o mercado externo, sendo o Brasil considerado o segundo maior importador de alho do mundo, perdendo apenas para a Indonésia (FAO, 2021).

O Brasil lidera a produção mundial de cana-de-açúcar, sendo o Estado de São Paulo o principal produtor dentro do país, desempenhando um papel significativo na produção nacional. Esta colheita desempenha um papel crucial na produção global de açúcar e bioenergia renovável, sendo cultivada em cultivo áreas áridas e semiáridas. A cana-de-açúcar representa uma fonte vital de açúcar em escala global, contribuindo com aproximadamente 80% da produção mundial (Chen et al., 2020; Verma et al., 2022; CONAB, 2022).

Desde a sua criação, o sistema agrícola passou por grandes transformações, abrangendo o envolvimento de produtos químicos, sementes híbridas e domesticação de espécies de plantas para cultivo. Recursos naturais como a água e o solo estão sob constante pressão, ainda mais o mesmo acontece com a população crescente ano após ano. Portanto, é de extrema importância estudar o meio ambiente, como a qualidade do solo, a água e a diversidade de organismos, para o conhecimento do meio ambiente como um todo e avaliar possíveis impactos, como o uso de produtos químicos e insumos biológicos utilizados nas plantações que drenam para o meio ambiente (Almaghrabi et al., 2014; Zerrouk et al., 2019; Chaudhary et al., 2021).

Os métodos de identificação e classificação de microrganismos mudaram consideravelmente ao longo dos anos, décadas atrás, só era possível realizar tal procedimento por métodos físicos e químicos envolvendo meios de cultura e reagentes, mas com o advento de técnicas moleculares e sequenciamento de DNA, particularmente para o gene *16s rRNA*, um gene considerado um marcador molecular padrão para bactérias, todo o cenário mudou, especialmente com o uso de sequenciadores atuais, preparados para fornecer detalhes da comunidade microbiana de forma detalhada, contribuindo para uma visão ampla e de maior precisão sobre a comunidade (Simonin e Richaume, 2015; Chaudhary et al., 2021).

O conhecimento metagenômico do solo do alho é crucial para melhorar a produção da agricultura. A análise metagenômica permite a compreensão da diversidade microbiana presente no solo, incluindo microrganismos benéficos, como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas. Esses microrganismos têm funções vitais, como fixação de nitrogênio e solubilização de nutrientes, aumentando a disponibilidade de nutrientes para as plantas de alho. Gêneros bacterianos como *Bacillus* e *Azospirillum* são conhecidos por promover o crescimento do alho, melhorando a emergência dos bulbilhos, biomassa vegetal e rendimento. Além disso, a identificação de genes e vias metabólicas na microbiota do solo pode fornecer informações valiosas para desenvolvimento de uma gestão mais eficaz de estratégias, como a seleção de cepas específicas de bactérias promotoras de crescimento de plantas para aplicação no cultivo de alho. Assim, o conhecimento metagenômico do solo de alho não só otimiza a nutrição das plantas, mas também promove um ambiente mais saudável e equilibrado para o crescimento e desenvolvimento da cultura (Boeing e Seben, 1995; Pessoa Filho, 2010; Rezende et al., 2021; de Souza e da Cruz, 2024).

Levantamos a hipótese de que diferenças na taxonomia do solo e nas funções dos genes promotores de crescimento de plantas em culturas de alho e cana-de-açúcar refletem adaptações específicas de comunidades microbianas às exigências nutricionais e ambientais de cada planta, as quais poderiam ter um futuro aproveitamento biotecnológico. Assim, este estudo teve como objetivo investigar isolados do solo de áreas cultivadas com alho, buscando identificar microrganismos com potencial para promover o crescimento de plantas, avaliando sua eficácia nas

culturas de soja, milho e alho. Além disso, foi realizada a análise metagenômica de solos cultivados com cana-de-açúcar e alho, a fim de explorar o potencial taxonômico e funcional associado às vias do nitrogênio, fósforo e fitormônios. Os dados foram descritos e comparados para uma análise ecológica entre uma região de monocultura predominantemente cultivada com cana-de-açúcar e uma área de rotação de culturas, cuja última cultura foi o alho, focando na bioprospecção taxonômica e funcional de microbiota em solos cultivados com plantas de alho e cana-de-açúcar, além do isolamento de promissoras RPCPs.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produção agrícola no Brasil

O agronegócio continua sendo uma marca registrada de força de mercado no Brasil. A produção de cereais, oleaginosas e leguminosas para a safra nacional alcançou em 2024 o total de 295,1 milhões de toneladas, 6,4% menor que a obtida em 2023 (315,4 milhões de toneladas), com redução de 20,2 milhões de toneladas; e 0,4% abaixo da informada em agosto, com decréscimo de 1,2 milhão de toneladas (IBGE, 2024).

A área destinada à colheita totaliza 78,7 milhões de hectares, um aumento de 1,1% em comparação a 2023, com acréscimo de 817,3 mil hectares, e um crescimento adicional de 0,1% (101,3 mil hectares) em relação a agosto. Os três principais cultivos — arroz, milho e soja — juntos correspondem a 92,1% da produção estimada e representam 87,2% da área total a ser colhida. Em comparação ao ano anterior, houve aumento de 15,6% na área de algodão herbáceo (em caroço), 5,4% na de arroz em casca, 6,6% na de feijão e 3,3% na de soja. Em contrapartida, foram registrados declínios de 3,3% na área destinada ao milho (com quedas de 9,3% no milho da 1ª safra e de 1,4% na 2ª safra), 11,9% no trigo e 2,2% no sorgo. Quanto à produção, houve crescimentos de 14,2% para o algodão herbáceo (em caroço), 2,4% para o arroz, 5,5% para o feijão e 9,0% para o trigo. Já a soja apresentou redução de 4,9%, enquanto o milho teve queda de 11,0% (com diminuições de 17,4% na 1ª safra e 9,3% na 2ª safra) e o sorgo recuou 8,7%. (IBGE, 2024).

A estimativa de setembro para a produção de soja foi de 144,5 milhões de toneladas. Para o milho, a previsão alcançou 116,7 milhões de toneladas, sendo 23,0 milhões provenientes da 1ª safra e 93,7 milhões da 2ª safra. A produção de arroz foi estimada em 10,5 milhões de toneladas, enquanto o trigo alcançou 8,4 milhões de toneladas, o algodão herbáceo (em caroço) 8,8 milhões de toneladas e o sorgo, 3,9 milhões de toneladas. A produção total de cereais, leguminosas e oleaginosas registrou crescimento anual na Região Norte (12,5%), enquanto as demais apresentaram redução: Sul (-0,7%), Centro-Oeste (-9,9%), Sudeste (-15,8%) e Nordeste (-3,8%). Na comparação mensal, as regiões Norte (0,4%), Nordeste (0,3%) e Centro-Oeste (0,4%) tiveram aumento, enquanto o Sudeste (-4,6%) e o Sul (-0,9%) registraram queda. Mato Grosso permaneceu como o maior produtor de grãos do país, com 31,1% de participação, seguido por Paraná (12,8%), Rio Grande do Sul (12,0%), Goiás (10,6%), Mato Grosso do Sul (7,2%) e Minas Gerais (5,6%), que juntos somaram 79,3% da produção total. A distribuição por regiões brasileiras ficou assim: Centro-Oeste (49,2%), Sul (26,9%), Nordeste (8,8%), Sudeste (8,7%) e Norte (6,4%). (IBGE, 2024).

2.2 Consequências ambientais da monocultura em solo brasileiro

A monocultura refere-se ao cultivo de apenas uma espécie agrícola em uma área ou região específica, sendo comum em grandes propriedades rurais. No Brasil, esse modelo se consolidou desde os primórdios da economia agrária, quando houve uma priorização de culturas como cana-de-açúcar, café e, mais recentemente, soja. Essas plantações em larga escala são predominantemente voltadas para o comércio, especialmente para exportação, já que a alta produção de uma única cultura ultrapassa as necessidades alimentares da população. No entanto, essa prática intensiva gera sérios danos ambientais, como o esgotamento dos nutrientes do solo e da poluição por fertilizantes e defensivos químicos, usados para compensar a perda de produtividade causada pelo cultivo produtivo de uma única espécie e para controlar indiretamente favorecidas pela homogeneidade (Zimmermann, 2009). A monocultura em larga escala começou a se popularizar com a modernização agrícola no modelo europeu e norte-americano, intensificada após a Revolução Industrial. Esse método baseava-se na mecanização dos processos agrícolas, sem uso intensivo de fertilizantes sintéticos e sem controle químico de

flexibilidade. Antes disso, a monocultura só era viável em condições bastante restritas, como em solos naturalmente férteis ou em áreas de exploração recentes, onde a gestão não era uma preocupação (Romeiro, 1998; Zimmermann, 2009).

O cultivo da cana-de-açúcar opera de forma constante e imparável, pois consome intensamente os recursos ao seu redor. A cultura expande-se sobre extensas áreas de terra, esgota o húmus do solo, elimina pequenos plantios e características do capital humano. Apesar de, à primeira vista, oferecer certa proteção contra a erosão devido à cobertura vegetal de sua densa folhagem e ao fortalecimento da estrutura do solo por suas raízes profundas, o monocultivo destrói rapidamente a fertilidade do solo. Esse altera desgaste sua composição, diminuindo sua resistência à manipulação causada por forças erosivas (Castro, 1965; Zimmermann, 2009). No Nordeste, os efeitos ambientais da cana-de-açúcar resultaram na a destruição da vegetação nativa, promovida pelas queimadas para preparar o terreno para o plantio. Em seguida, ocorreu um rápido empobrecimento e esgotamento do solo, dificultando a reposição do húmus, antes de ser resguardado pela reserva da matéria orgânica da floresta. Essa manipulação acelerou processos de lavagem excessivos do solo pela água, resultando em erosão irreversível. A recuperação dessa fertilidade perdida, arrastada para os cursos d'água e para o oceano, está fora do alcance das capacidades humanas, nem mesmo com o uso de tecnologias de fertilização que exigem altos custos (Castro, 1965; Zimmermann, 2009).

A expansão significativa da agricultura no Cerrado brasileiro está fortemente vinculada ao cultivo de monoculturas, que dependem de grandes quantidades de agrotóxicos e fertilizantes. Essa prática é compreensível, considerando que os solos do bioma Cerrado apresentam baixa fertilidade natural, o que exige o emprego intensivo dessas tecnologias para alcançar os elevados níveis de produtividade obtidos nas áreas agrícolas dessa região, caracterizadas por terras mais pobres (Soares e Porto, 2007; Zimmermann, 2009).

A rotação de culturas é considerada a prática agrícola mais eficaz para preservar a integridade e a complexidade dos ecossistemas naturais. No entanto, apesar de seus inúmeros benefícios, a monocultura continua sendo amplamente preferida em nível global. Atualmente, seus principais praticantes são os países em

desenvolvimento, geralmente mais pobres, situados em regiões tropicais. Nessas nações, a monocultura é utilizada principalmente para a produção de commodities agrícolas, destinadas quase exclusivamente à exportação para países desenvolvidos. Ironicamente, essas nações ricas já degradaram seus solos devido a modelos de produção insustentáveis, que, ainda assim, foram adotados e continuam sendo empregados pelas economias mais vulneráveis (Zimmermann, 2009).

Os danos provocados pela monocultura vão além dos aspectos agroambientais. Esse modelo de cultivo, mesmo quando aplicado a diferentes espécies vegetais com fins econômicos, gera impactos ambientais severos. Um exemplo é o monocultivo de eucalipto, liderado por grandes corporações do setor de papel e celulose. Essa prática demanda altos níveis de nutrientes do solo e consome grandes volumes de água, contribuindo significativamente para o esgotamento dos recursos naturais. Além disso, o cultivo intensivo do eucalipto representa uma séria ameaça à biodiversidade local, reduzindo a variedade de espécies e comprometendo os ecossistemas (Zimmermann, 2009).

2.3 Alho (*Allium sativum*)

O alho (*Allium sativum*) é um vegetal herbáceo, pertencente à família Alliaceae, de acordo com a sua cultivar pode chegar a uma altura de até 60 centímetros e possui folhas lanceoladas, cerosas e estreitas. O bulbo é formado pelo pseudocaule curto que se origina da bainha das folhas. Um disco comprimido como ponto de partida entre as raízes e folhas é o que pode ser chamado de caule verdadeiro. O bulbo é dividido em bulbilhos (dentes), estes podem ser de forma arqueada ou ovóides, cobertos por folhas de proteção chamadas de brácteas. As brácteas podem ter colorações diferentes como branca, marrom, vermelha, roxa ou violeta. O bulbo conta ainda com uma proteção extra, onde é envolvido por diversas túnicas esbranquiçadas que conseguem ser prontamente destacáveis (Haber et. al., 2015).

O Mercado brasileiro da cultura do alho ainda é dependente do mercado estrangeiro. O Brasil é considerado o segundo maior importador de alho do mundo, somente no ano de 2019 adquiriu 165.446 toneladas, volume bastante superior à sua produção que foi de 131.523 no ano em questão, ficando atrás somente da Indonésia (FAO, 2021). No que diz respeito à exportação, a China continua sendo o

maior produtor e exportador de alho para o mundo (cerca de 77% de sua produção total), seguido da Espanha (8% de sua produção total) (Parejomozuno e Rangel-Preciado, 2020). No que diz respeito à produção interna, o Brasil produziu 167.102 Toneladas de alho no ano de 2021, onde o maior produtor foi o Estado de Minas Gerais (73.940 Toneladas) em uma área colhida de 4.861 Hectares (IBGE, 2021).

O alho é uma hortaliça aromática consumida em todo o mundo em preparações de pratos. Além de seu consumo como alimento, o alho possui diversas propriedades biológicas relacionadas à saúde, como por exemplo, atividades antidiabéticas, antioxidantes, anticarcinogênicas, antibacterianas, antifúngicas e anti-hipertensivas. Essas propriedades são possíveis através de seus fitoconstituintes, o alho apresenta diversos constituintes químicos, dentre eles compostos contendo enxofre como tiosulfinações, ajoenos, vinilditinas e sulfetos (Batiha et al., 2020).

Na antiguidade, povos já utilizavam o alho como remédio fitoterápico a milhares de anos, seu aparecimento é datado próximo de 5000 anos atrás. Existem diversas controvérsias sobre sua origem, ela pode ter sido na Europa mediterrânea ou no continente Asiático, entretanto, diversos estudos apontam que sua verdadeira origem advenha da Ásia e, somente após, foi disseminado pelo Egito por tribos asiáticas nômades e posteriormente levado para o extremo oriente por meio de comércio com a Índia até chegar a Europa (Haber et al., 2015).

Um papiro nomeado Codex Ebers escrito em 1500 anos A.C já descrevia as propriedades de cura do alho e da cebola (Duque et al., 2018). Apesar de ser cultivado em todo o mundo, o alho chegou ao Brasil somente com a colonização do país por Portugal, onde alcançou notável importância socioeconômica, tornando-se cultivado por pequenos, médios e grandes produtores rurais (Resende, 2018).

2.4 Desafios para a produção da cultura de alho no Brasil

Introduzido no Brasil durante o período da colonização portuguesa, o alho tornou-se um produto de relevância socioeconômica, sendo cultivado por agricultores de diferentes portes, desde pequenos até grandes produtores. Devido à sua alta exigência de mão de obra e ao elevado retorno financeiro obtido em áreas reduzidas, o alho se apresenta como uma excelente alternativa de renda para a

agricultura familiar. Atualmente, o alho ocupa a sexta posição entre as hortaliças de maior valor na produção agrícola nacional. Nos últimos anos, o consumo anual de alho no país tem permanecido estável, girando em torno de 300 mil toneladas, o que equivale a uma média de 1,5 kg por pessoa ao ano. Vale ressaltar que a preferência nacional é pelo consumo do alho in natura, que corresponde a cerca de 95% do total consumido no Brasil. Contudo, a produção nacional não atende à demanda interna, tornando as importações necessárias (Resende, 2018).

O alho importado entra no mercado brasileiro com preços altamente competitivos. Para evitar práticas de concorrência desleal, o país adota tarifas antidumping com base nas diretrizes de proteção comercial da Organização Mundial do Comércio (OMC). Embora o Brasil consiga produzir apenas parte do alho consumido internamente, a autossuficiência é viável, dado o potencial de expansão do cultivo para diversas regiões do território nacional. Além das tradicionais regiões produtoras localizadas no Sul, Sudeste e Centro-Oeste, áreas de microclimas específicos em altitudes do Nordeste e até do Norte do país têm condições de viabilizar o cultivo comercial. No entanto, devido às particularidades edafoclimáticas dessas regiões, são necessários estudos específicos para aprimorar a eficiência produtiva e garantir sustentabilidade. Nessa perspectiva, pesquisas que envolvam a adaptação de variedades, nutrição mineral, manejo da irrigação, processos de vernalização, qualidade das sementes de alho e técnicas de conservação pós-colheita são imprescindíveis (Resende, 2018).

A cadeia produtiva do alho no Brasil enfrenta um desafio significativo: a dificuldade de acesso às inovações tecnológicas geradas pelas instituições de pesquisa. Muitas informações técnicas não chegam a todas as categorias de agricultores, especialmente aos pequenos produtores, que, por décadas, têm dedicado seus esforços ao cultivo de alho. Em diversas regiões tradicionais, esses agricultores reduziram ou até cessaram suas atividades, devido ao atraso tecnológico, à perda de qualidade das sementes de alho e ao aumento das importações. Essa situação afeta principalmente os pequenos produtores, que dependem mais diretamente da assistência técnica e das inovações para melhorar sua competitividade. Assim, torna-se essencial estruturar um modelo de difusão tecnológica que seja inclusivo, permitindo que esses agricultores recuperem sua

capacidade de competir no mercado e que as regiões tradicionais retomem seu papel na produção nacional, ajudando o Brasil a alcançar a autossuficiência (Resende, 2018).

Apesar disso, apenas ampliar as áreas de cultivo, melhorar a produtividade e garantir a qualidade do alho nacional não bastam para reduzir as importações. Ao longo dos anos, os produtores brasileiros têm se esforçado para aumentar a produção local e reduzir a presença do alho estrangeiro no mercado interno, mas frequentemente enfrentam prejuízos devido à entrada descontrolada de produtos importados. Há uma demanda contínua por políticas governamentais que limitem as importações durante os períodos de pico da comercialização do alho nacional. Contudo, decisões governamentais equivocadas, que desconsideram os níveis de produção interna, muitas vezes permitem a entrada excessiva do alho importado, agravando os problemas enfrentados pelos produtores nacionais (Resende, 2018).

2.5 Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e a fixação biológica de nitrogênio

A aplicação de RPCPs surgem como uma forma de alinhar o alto rendimento de produção com mecanismos sustentáveis em contraponto à agricultura convencional, que visa o crescimento de produção através do aumento de utilização de produtos agroquímicos que contribuem para contaminação da água e terra (Della et al., 2022).

A caracterização de bactérias é um recurso indispensável, pois é extremamente importante para a identificação de microrganismos e, conseqüentemente, poder distinguir se a bactéria é patogênica ou não (Sentausa e Fournier, 2013). A caracterização é possível através da comparação de homologia do gene *16S rRNA* com sequências existentes em ferramentas de comparação como o BLAST e Seqmatch (Rajendhran e Gunasekaran, 2011). Atualmente, diversos gêneros já foram caracterizados e listados possuindo microrganismos que promovem o crescimento de plantas, como, por exemplo, podemos citar dentre os principais: *Bradyrhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Azospirillum* (Avontuur et al., 2020; Vyas e Kaur, 2021; de Souza e da Cruz, 2024).

O nitrogênio, também chamado de azoto, é um elemento de suma importância para o planeta e toda a vida que nele o habita. É considerado um elemento não metálico, correspondente a cerca de 78% da atmosfera em volume. É constituído pelo número atômico 7 e número de massa 14,01. É um gás inodoro, insípido, incolor e inerte. Esse é um elemento indispensável em vários processos compatíveis com a vida, dentre eles, um importante e bastante estudado na agricultura é sua fixação em plantas através de associações com microrganismos (Peixoto, 1997).

O seu processo de fixação se dá através da conversão de nitrogênio atmosférico em amônia, um formato que é rapidamente usufruído pelos vegetais. Algumas espécies de plantas possuem a capacidade de suprimento de uma ou várias de suas deficiências de nitrogênio através deste meio e justamente por isso, lhes é conferida algumas vantagens competitivas que são substancialmente grandes em comparação com as que não possuem essa capacidade. Os microrganismos com a capacidade de fixação de nitrogênio em plantas formam relações simbióticas íntimas em relação ao seu hospedeiro. As bactérias, por vez, se alojam dentro dos nódulos, um órgão especializado que é formado na raiz. Sendo assim, uma relação de simbiose mutualística é formada onde, simbiote e hospedeiro parecem funcionar essencialmente como apenas um organismo (Dong e Song, 2020; Soltis et al., 1995; Vessey, 2003; Vessey et al., 2004).

O mecanismo de interação entre microrganismos do solo com plantas segue um roteiro, onde: o microrganismo recebe carbono e energia através da planta e, em troca, converte nitrogênio da atmosfera em amônia. Para a realização desse mecanismo, o nódulo da raiz evoluiu para facilitar a fixação do nitrogênio pelo simbiote e a assimilação de amônia pela planta (Dong e Song, 2020; Soltis et al., 1995; Vessey, 2003; Vessey et al., 2004).

Por consequências da ampliação de produção de leguminosas em todo o mundo, o aumento da fixação de nitrogênio foi radicalmente expandido, visto que as leguminosas formam associações com bactérias fixadoras de nitrogênio. Acredita-se que a fixação de nitrogênio tenha crescido cerca de 2 vezes mais, devido à fixação exacerbada no solo induzido pelo cultivo no final do século XX. Fatores ambientais não intencionais também foram descritos devido ao aumento da fixação biológica de

nitrogênio, como exemplo disso, temos as perdas substanciais de nitrogênio causadas por ineficiências ao longo de toda a cadeia de produção-consumo de alimentos (Erisman et al., 2013; Galloway et al., 2004; Gruber e Galloway, 2008; Howarth, Cowling, e Cosby, 2003; Reis et al., 2020; Tg, 1999).

O excesso de nitrogênio nos solos causa diversos prejuízos, ele pode percorrer pelos sistemas terrestres e aquáticos, resultando em diversas consequências à saúde humana e ao meio ambiente, tais como eutrofização, perda de biodiversidade, redução de água potável e queda substancial da qualidade do ar. Essas mudanças podem afetar diretamente os padrões de fixação de nitrogênio em todo o mundo. A América Latina dispõe de uma grande diversidade de espécies de leguminosas, principalmente em florestas tropicais e savanas e, justamente por isso, acredita-se ela tenha uma das maiores taxas de fixação biológica de nitrogênio em ecossistemas terrestres na Terra (Erisman et al., 2013; Galloway et al., 2004; Gruber e Galloway, 2008; Howarth et al., 2003; Reis et al., 2020; Tg, 1999).

Em consequência deste fato, a América Latina se torna notável no que diz respeito às alterações de fixação biológica de nitrogênio e do ciclo global do elemento em todo o mundo, pois detém em toda extensão de seu espaço de cultivo, culturas como a cana-de-açúcar e a soja, detentoras de alto potencial de fixação de nitrogênio (Janssen e Rutz, 2011; Reis et al., 2020; Vaclav, 1988).

As bactérias do gênero *Bradyrhizobium* estão englobadas na família Bradyrhizobiaceae, ordem Rhizobium, Classe Alphaproteobacteria, cuja a família apresenta atualmente, cerca de 12 gêneros. Análises filogenéticas corroboraram para que fossem mostrados resultados de que essa família está amplamente associada a microrganismos que colonizam ambientes diferentes, tais como animais, plantas e solo. São bactérias que apresentam pleomorfismo, apresentando-se predominantemente no formato de bastonete. São diversas as propriedades ecológicas, fenotípicas e metabólicas que estão associadas a cada gênero, dentre esses, a fixação de nitrogênio realizada por *Bradyrhizobium spp.* se torna importante devido a sua aplicação direta na agricultura (Souza et al., 2014).

O gênero possui essa nomenclatura pelo fato de que, em sua composição, estão bactérias que possuem o crescimento lento em comparação com outras bactérias de sua família. Estas bactérias possuem a capacidade de formarem

nódulos e fixar nitrogênio atmosférico em plantas leguminosas. O status taxonômico do gênero *Bradyrhizobium*, assim como ocorre em outras espécies, é volátil devido às constantes modificações conforme vão surgindo novas técnicas e evidências experimentais. Devido a estes acontecimentos, diversos microrganismos anteriormente descritos em outros gêneros, passaram a pertencer a este gênero de bactérias. Isto é possível devido a estudos, por exemplo, relacionados a consultas de similaridade com o gene *16s rRNA* presente em microrganismos do domínio das Bactérias (Avontuur et al., 2020).

Estes microrganismos estão relacionados à fixação de nitrogênio em diversas espécies de leguminosas. Isso é possível porque nos cromossomos dessas bactérias existem ilhas de simbiose que portam os genes *nod* e *nif* que são responsáveis pela nodulação e fixação de nitrogênio. Algumas cepas também são capazes de fixar nitrogênio como endófitos em diversos vegetais, até mesmo plantas não leguminosas como, por exemplo, arroz e milho (Ormeño-orrillo e Martínez-romero, 2019).

Algumas bactérias do gênero *Bacillus* são conhecidas pelo seu potencial de ação inseticida contra uma grande diversidade de insetos-praga que assolam várias culturas, mas, o uso desses microrganismos não se restringe somente ao qual são conhecidos. Uma entre as mais conhecidas espécies do gênero é *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), uma bactéria gram-positiva formadoras de esporos. Além da notável ação de *B. thuringiensis* como bioinseticida, diversos estudos comprovaram sua capacidade de controle de fungos fitopatogênicos (Azizoglu, 2019). São poucos os estudos com *Bt* relacionados à capacidade como bioestimulador, porém, já foi relatado que *Bt* pode colonizar os tecidos de diversas culturas como soja, arroz, repolho e algodão como microrganismo endófito (Praça et al., 2012; Argôlo-Filho; Loguercio, 2013; Qi et al., 2016; Azizoglu, 2019).

Entretanto, apesar de *Bt* não ser tão estudado como biofertilizante, outra espécie do gênero faz a vez, *Bacillus subtilis*. *B. subtilis* é uma entre as bactérias mais estudadas quando o assunto é microrganismo com potencial de promoção de crescimento de plantas. A aptidão de formar esporos resistentes e seus diversos benefícios às plantas, a torna uma excelente candidata para utilização na agricultura. Os benefícios são promovidos de forma direta e indireta como melhoria

na disponibilidade de nutrientes, alteração na homeostase de hormônio de crescimento vegetal, biocontrole, redução de estresse abiótico e proteção de plantas por antibiose (Blake et al., 2021).

Pseudomonas fluorescens são um conjunto de bactérias que impactam no crescimento de plantas, melhora o estado nutricional do solo e nutrição das plantas. Prevaecem tanto no solo como nos tecidos vegetais, sendo considerada uma bactéria endofítica (Gulati et al., 2009; Vyas e Kaur, 2021). A produção de sideróforos, atividade de ACC desanimase e solubilização de fosfato inorgânico, são algumas das capacidades de produção de metabólitos que podem exibir (Lally et al., 2017; Vyas e Kaur, 2021). Existem cerca de 586 espécies e 23 subespécies de bactérias no gênero *Pseudomonas*, porém, o número de trabalhos na literatura relacionados a triagem de estirpes tolerantes a estresse para o avanço na produção de inoculantes ainda é pequeno (LPSN, 2023; Sharan et al., 2008; Vyas et al., 2010; Vyas e Kaur, 2019; Vyas e Kaur, 2021).

Na literatura estão presentes diversos trabalhos que comprovam a eficiência de *P. fluorescens* como um agente promotor de crescimento de plantas. Em *Brassica napus*, *P. fluorescens* endofítico promoveu expressivo aumento de biomassa vegetal comparado com as testemunhas não inoculadas (Lally et al., 2017). Também foi relatado por Vyas e Kaur (2021), aumento considerável no crescimento de plantas de milho e ervilha, quando inoculadas com *P. fluorescens* Z1B4 em relação ao controle não inoculado. Sendo assim, RPCPs mesmo que endofíticas, auxiliam no crescimento vegetal e biocontrole de patógenos através de relação mutualística com o hospedeiro (Oteino et al., 2015; Lally et al., 2017; Egan e Kakouli-Duarte, 2022).

Outro notável promotor de crescimento de plantas é o *Azospirillum*, este microrganismo viabiliza muitos benefícios diretos e indiretos em vegetais quando aplicado, e sua ação se estende sobre uma ampla gama de culturas. Essas bactérias são gram-negativas, vibróides e aeróbicas. Atualmente existem 33 espécies descritas, mas, mesmo assim, as espécies *Azospirillum brasiliensis* e *Azospirillum lipoferum* continuam sendo duas das mais estudadas. As duas espécies em questão podem ser encontradas em diferentes lugares como forrageiras, cereais e poáceas (Hartman e Baldani, 2006; Zambrano et al., 2007;

Reis, Pedraza e Teixeira, 2010; LPSN, 2023). Geralmente são encontradas como endofíticas em plantas, todavia, existem trabalhos que mostram sua ocorrência em ambientes com condições máximas de concentração de sais ou temperatura (Nosko et al., 1994; Young et al., 2008; Reis, Pedraza e Teixeira, 2010).

Elias et. al. (2018) constataram em ensaio de plantas de morangueiro com inoculação de *A. brasiliensis* REC3, efeito significativo de promoção de crescimento em comparação com o controle. Da mesma forma, Zaheer et al. (2022) observaram significativo crescimento de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) quando inoculadas com *A. brasiliensis* RA-17, devido à capacidade da cepa de sintetização de zeatina, hormônio vegetal do grupo das citocininas, em relação ao controle *A. brasiliensis* RA-18 não produtora. Em suma, inóculos comerciais a base de *Azospirillum* continuam sendo fabricados e utilizados em milhares de hectares, sobretudo na América Latina (Fuentes-Ramirez e Caballero-Mellado, 2005; Cássan e Garcia de Salamone, 2008; Hungria et al., 2010; Helman et al., 2011; Fibach-Paudi, Burdman e Okon, 2012).

2.6 A bioinformática aplicada na Agricultura

Watson e Crick (1953) descobriram através de suas pesquisas, que o DNA consistia de uma dupla fita em formato de hélice. Após este acontecimento, foi descoberto mais tarde o curso de todas as informações biológicas contidas em um organismo, nascendo então, o ramo da biologia molecular. Porém, devido aos avanços tecnológicos que eram dados a curtos passos na época, não se era possível ainda, a análise a nível molecular de um código genético (Rocha, 2011; Watson, 2004).

Atualmente, são diversas as ferramentas e técnicas existentes para o uso da bioinformática, onde, grande parte, se concentra em sequenciamentos, arranjos, integridade e análise de genomas. A bioinformática surgiu na década de 80, onde foram construídos os primeiros equipamentos que permitiam a leitura ou até mesmo sequenciar um gene. Juntamente com o aparecimento desses equipamentos, houve a necessidade de acompanhamento da evolução da bioinformática, pois, se via cada vez mais a necessidade de equipamentos de última geração com maior capacidade de armazenamento de dados e também como processá-los mais rápido gradativamente (Rocha, 2011; Setubal, 2003).

Mesmo com o atual avanço da tecnologia, os pesquisadores necessitam cada vez mais de novas ferramentas que solucionem problemas específicos. Isso envolve então, a elaboração e o uso de ferramentas que consigam expandir e favorecer o uso de dados biológicos que possam armazenar, organizar, analisar e visualizar esses dados. Através da bioinformática, possuímos uma gama de possibilidades no que diz respeito, por exemplo, ao DNA e suas implicações, como por exemplo: extração de informações de DNA e também de proteínas de um determinado organismo ou microrganismo, por meio do sequenciamento automático de nucleotídeos e aminoácidos. Portanto, é indispensável o uso e criação de novas ferramentas e equipamentos neste âmbito, pois se tornam indispensáveis para leituras e análises no que diz respeito a biologia molecular de organismos ou microrganismos existentes (Benson, 2011; Id et al., 2019; Rocha, 2011).

Desde sua criação, o sistema agrícola vem passando grandes transformações, nessas mudanças estão englobados o envolvimento de produtos químicos, sementes híbridas e domesticação de espécies de plantas para cultivo. Os recursos naturais como água e solo sofrem constante tensão, ainda mais com o crescente número da população ano após ano. Sendo assim, é de suma importância estudar o ambiente, tal como a qualidade de solo, água e diversidade de organismos e microrganismos, para o conhecimento do ambiente como um todo e também, avaliar possíveis impactos, tais como a utilização de insumos químicos e biológicos utilizados em plantações que escoam para o ambiente (Almaghrabi et al., 2014; Zerrouk et al., 2019; Chaudhary et al., 2021).

Diversas bactérias são utilizadas como biofertilizantes para atuar diretamente no crescimento de plantas, a elas, damos o nome de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, que atuam fortemente na liberação de fitohormônios que beneficiam diretamente e indiretamente o vegetal (Glick, 2012). A rizosfera dispõe da maior diversidade microbiana e, por isso, afeta intimamente a relação entre solo e planta. A população rizosférica pode influenciar diretamente a absorção de nutrientes dependendo de sua condição, pois, muitos microrganismos secretam uma diversidade de enzimas extracelulares benéficas ao vegetal, enzimas essas que possuem papel fundamental na identificação de grau de fertilidade do solo (Feng et al., 2013; Chaudhary et al., 2021).

Os métodos de identificação e classificação têm mudado bastante com o passar dos anos, há décadas atrás, era possível somente realizar tal procedimento por métodos físicos e químicos que envolviam meios de cultura e reagentes, porém, com o advento de técnicas moleculares e sequenciamento de DNA, em particular ao gene *16s rRNA*, um gene considerado um marcador molecular padrão para bactérias, todo o cenário mudou, principalmente com a utilização do sequenciador atual Illumina, preparado para o fornecimento de detalhes de comunidade microbiana de maneira detalhada, contribuindo com uma visualização ampla de maior precisão sobre a comunidade microbiana (Simonin e Richaume, 2015; Chaudhary et al., 2021).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Este trabalho teve como objetivo realizar a prospecção de isolados do solo de cultivo de alho com capacidades conferidas àqueles microrganismos que promovem o crescimento de plantas, testando-os nas culturas da soja, milho e alho. Adicionalmente, a realização do metagenoma dos solos cultivados com cana-de-açúcar e alho para levantar o potencial taxonômico e funcional relacionado às vias do nitrogênio, fósforo e fitormônios, descrevendo-os e comparando-os para análise ecológica de uma região de monocultura abastecida somente com cana-de-açúcar e de uma região de rotação de culturas, sendo a última plantada, alho.

3.2 Objetivos específicos:

- Fazer análise físico-química das amostras do solo;
- Construir o metagenoma do solo de cana-de-açúcar e alho afim de identificar genes funcionais com características que envolvam a promoção do crescimento de plantas e compara-los ecologicamente;
- Montar uma coleção de isolados do solo proveniente de cultivo de alho para estoque e utilização nos demais experimentos;
- Caracterizar morfológicamente os isolados quanto as suas atividades morfológicas;
- Caracterizar bioquimicamente os isolados quanto as suas propriedades de solubilização de fosfato e produção de ácido-indolacético;
- Montar experimento em casa de vegetação com soja, milho e alho com os isolados mais promissores nos testes bioquímicos;
- Avaliar o crescimento da raiz, parte aérea, e massa seca e úmida das plantas de soja, milho e alho através de análise estatística;
- Caracterizar molecularmente através do gene *16s rRNA* os isolados utilizados no plantio.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Origem e obtenção das amostras de solo para análise metagenômica

O trabalho foi realizado utilizando amostras de solo de cana-de-açúcar coletadas de uma região agrícola da cidade de Bebedouro no Estado de São Paulo – Brasil em quatro pontos distintos, sendo nomeados e coordenados como A377 (20°53'8"5/48°29'39"0), A378 (20°53'8"5/48°29'38"0), A379 (20°53'8"5/48°29'39"0) e A380 (20°53'8"5/48°29'39"0). Da mesma forma, as amostras de alho provenientes de uma região agrícola da cidade de Pitangueiras no Estado de São Paulo – Brasil, também em quatro pontos distintos, sendo continuamente nomeados e coordenados como A381 (20°59'39"5/48°14'10"0), A382 (20°59'39"5/48°14'11"0), A383 (20°59'37"5/48°14'10"0) e A384 (20°59'36"5/48°14'11"0). As amostras foram coletadas de solo agricultável em uma profundidade de 0-20 cm.

4.2 Análise físico-química do solo

Foram feitas análises físico-químicas do solo de cultivo de cana-de-açúcar e alho afim de saber as propriedades das amostras de solo coletadas no solo agricultável na região de Bebedouro e Pitangueiras (SP), respectivamente. As análises físicas foram feitas através do Manual de Métodos de Análise de Solo (Donagema et al., 2011). As análises químicas de micronutrientes e macronutrientes foram feitas através dos métodos de Turbidimetria, Espectofotometria, Potenciometria e Expectometria de Absorção Atômica (Raij et al., 2001).

4.3 Extração e sequenciamento de DNA total das amostras de solo

O DNA total das amostras de solo foi extraído através do Kit PowerLyzer® PowerSoil® DNA Isolation, seguindo todas as recomendações de protocolo do fabricante. Após a extração, foi feita a leitura das amostras em Nanodrop 1000 Spectrophotometer (ThermoScientific – Uniscience) e também a visualização da qualidade das amostras em gel de agarose a 1%. As amostras de DNA de solo foram encaminhadas cuidadosamente ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo, situado na Cidade de Piracicaba, Estado de São Paulo – Brasil, para sequenciamento no Laboratório de Biologia Celular e Molecular.

4.4 Pré-processamento dos dados genômicos e Afiliação taxonômica

Os dados brutos do sequenciamento foram avaliados com relação a sua qualidade utilizando a ferramenta FastQC v.0.11.9. Sequências de leitura foram consideradas como de alta qualidade visto que todas apresentaram phred superiores a 20. A afiliação taxonômica das amostras foi realizada em modo paired utilizando o software Kraken2 com a database PlusPF 1/12/2024 (Gênomas de referência de Bactérias, Fungos e Protozoários do RefSeq - NCBI) (<https://benlangmead.github.io/aws-indexes/k2>) (Wood et al., 2019). O processamento e criação dos gráficos dos resultados de afiliação taxonômica foram feitos no pacote Microeco do R (Liu et al., 2021). A riqueza foi obtida pela contagem de gêneros enquanto a diversidade foi obtida utilizando o índice de Shannon. A significância da riqueza e diversidade foi calculada pelo teste de ANOVA com post-hoc Tukey e considerada como significativa quando o *p-valor* foi menor que 5%. Para a beta diversidade, utilizou-se a distância de bray-curtis com teste estatístico por PERMANOVA, considerando o resultado significativo quando $p < 0.05$. Ainda para a taxonomia, foi obtido um Heatmap com os táxons diferenciais, e plotados com o pacote pHeatmap do R, com normalização por z-score (Kolde e Kolde, 2015). Os táxons mais diferentemente significativos em cada tratamento foram plotados em um gráfico de barras utilizando LefSe como teste estatístico para a diferença entre os tratamentos. Redes de co-ocorrência, também conhecidas como networks, em cada tratamento foram obtidas pelo script em python obtido em <https://github.com/bio-developer/sparcc> (Friedman et al., 2012). Uma pré filtragem por abundância foi obtida na matriz de taxonomia. Nesta etapa, optou-se por manter os táxons cuja soma representa 90% do total de sequências do metagenoma. Após a criação da network, o gráfico foi gerado no programa Gephi (Bastian et al., 2009).

4.5 Análise de anotação funcional

A anotação funcional das sequências metagenômicas foi realizada utilizando os softwares DiTing e Superfocus (Xue et al., 2021; Silva et al., 2016). A ferramenta DiTing utiliza a database do KEGG orthology (Mao et al., 2005) utilizando o método de assembly com montagem de-novo com o software Megahit (Li et al., 2015), e anotação dos genes funcionais com a ferramenta KOfam Koala (Aramaki et al., 2019). O software Superfocus realiza a anotação com o software DIAMOND (Buchfink et al., 2015) através do banco de dados SEED subsystems (Overbeek et

al., 2014). O perfil funcional foi obtido automaticamente pelo SEED enquanto funções específicas foram previamente selecionadas na literatura de acordo com o interesse deste estudo. Para a composição taxonômica das funções específicas utilizou-se as proteínas anotadas pelo DiTing. Os arquivos de proteína foram transformados em arquivos de nucleotídeos pelo programa EMBOSS backtranseq (Rice et al., 2000) e taxonomicamente anotados pelo programa Kaiju (Menzel et al., 2016). Após a taxonomia ser anotada para cada função, foram gerados gráficos de abundância relativa no software R utilizando a ferramenta ggplot2 (Wickham et al., 2016).

4.6 Recuperação de genomas do metagenoma

Embora o perfil funcional tenha sido previamente avaliado, utilizou-se o método de clusterização de sequências para obtenção de genomas provenientes do metagenoma (MAGs). Os MAGs fornecem informações mais detalhadas e acuradas para anotações funcionais e taxonômicas. Para isso, foi utilizada a pipeline COMEBin para o binning (clusterização) dos contigs (Wang et al., 2024). Primeiramente, os contigs foram previamente gerados utilizando a co-montagem (junção de amostras de mesmo tratamento) com todas as leituras usando megahit. Em seguida, o mapeamento de contigs em relação às leituras iniciais foram realizadas para obter arquivos de cobertura em BAM, usando os scripts `gen_cov_file.sh` fornecidos pelo COMEBin. Para esta etapa, o alinhamento dos contigs contra as leituras foi realizado por bwa v.07.17 (Li et al., 2009a) e samtools v.1.17 (Li et al., 2009b). Após o cálculo da cobertura, foram então utilizados os contigs de co-montagem para obter os contigs de binning com a ferramenta COMEBin. Uma desreplicação de genomas foi realizada usando o software dRep v.3.4.2 (Olm et al., 2017). A qualidade dos genomas obtidos foi verificada usando CheckM v.1.1.2 (Parks et al., 2015) e Quast v.5.2.0 (Gurevich et al., 2013). Genomas foram considerados de boa qualidade quando a completude foi superior a 70% e a redundância inferior a 5%. Os genomas foram então remapeados para obter sua cobertura e profundidade em relação às leituras brutas usando bwa e samtools. A atribuição taxonômica dos genomas obtidos foi realizada com o software GTDBtk v.2.3.2 e com a versão do banco de dados r214 (Chaumeil et al., 2020). As anotações funcionais dos genes foram realizadas com Prokka v.1.14.6

(Seemann, 2014) e as características ecológicas foram atribuídas usando microTrait (Karaoz, Brodie, 2022). Uma árvore filogenética de máxima verossimilhança foi construída para avaliar as relações evolutivas entre os compartimentos recuperados usando GToTree v.1.8.4 (Lee, 2019).

4.7 Origem, obtenção e construção de coleção de isolados bacterianos

O trabalho foi realizado utilizando bactérias que foram isoladas do solo proveniente de uma região agrícola da cidade de Bebedouro (SP), com cultivo de alho (*Allium sativum*). As amostras foram coletadas de solo agricultável em uma profundidade de 0-20 cm. Os isolados bacterianos foram obtidos após homogeneização e diluição seriada de 1 g de amostras de solo em solução salina [NaCl 0.1% (p/v)], sendo cada tudo de 10 ml, agitados em agitador de tubo digital por 1 minuto. A diluição foi feita de modo que obtivemos as concentrações 10^5 e 10^6 para cada meio utilizado para o isolamento das bactérias. O isolamento ocorreu através de 5 meios de cultura diferentes para a construção da biblioteca de isolados bacterianos, a saber: Caldo Triptona de Soja (TSB) [composto por (g/L): NH_2RCOOH (17,0), NaCl (5,0), Digestivo Papaico de Soja (3,0), $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2,5), K_2HPO_4 (2,5)], Ágar (15), pH (7,0)]; Bunt e Rovira (1955) ausente de extrato de solo [composto por (g/L): $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (5,0), K_2HPO_4 (0,4), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0,5), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1023), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,2133), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,0170), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,1325), Peptona (1,0), Extrato de levedura (1,0), Ágar (15,0), pH (7,4)]; Kuster e Willians (1997) [composto por (g/L): Amido (10,0), Caseína (0,3), KNO_3 (2,0), NaCl (2,0), K_2PO_4 (2,0), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,05), CaCO_3 (0,02), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01), Ágar (15), pH (7,2)]; TY [composto por (g/L): Triptona (6,0), Extrato de Levedura (3,0), Ágar (12,0)]; Ágar Nutriente [composto por (g/L): Peptona de carne (5,0), Extrato de Carne (1,5), Extrato de Levedura (1,5), NaCl (5,0), Ágar (15,0), pH (7,4)]. Foi colocado a fim de evitar contaminação, o antifúngico Ciclohexamida ($1\mu\text{l/ml}$) em todos os 5 meios sólidos a serem preparados. As colônias de cada meio de cultivo sólido foram coletadas através de palitos de madeira previamente esterilizados e, então, inoculadas em meio de cultivo Caldo Triptona de Soja - TSB [composto por (g/L): Caseína (17,0), NaCl (5,0), Peptona (3,0), $\text{HK}_2\text{O}_4\text{P}$ (2,5), $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2,5), pH (7,0)], líquido em tubos de 15 ml por 48h a 27°C , 120 rpm para

crescimento e, assim, foram colocadas em tubos criogênicos de 2 ml na presença de glicerol [40% (v/v)], estes foram nomeados e estocados em ultrafreezer a - 80 °C.

4.8 Caracterização morfológica bacteriana

Os isolados previamente estocados em ultrafreezer – 80°C foram caracterizados de acordo com a sua morfologia nos seguintes parâmetros: coloração de GRAM, cor da colônia, Borda, elevação e forma. Todos os parâmetros citados, exceto a coloração de Gram, foram possíveis de serem analisados através do cultivo dos isolados em placa sólida de meio de cultivo Caldo Triptona de Soja - TSB [composto por (g/L): Caseína (17,0), NaCl (5,0), Peptona (3,0), HK₂O₄P (2,5), C₆H₁₂O₆.H₂O (2,5), pH (7,0)]. A coloração feita foi a de Gram modificada por Hucker (1921), pois é amplamente utilizada e confere melhor diferenciação entre microrganismos. Neste método, os esfregaços foram preparados e secos em lâmina de microscopia limpa com movimentos de vai e vem alternados. Após, os esfregaços foram fixados com a utilização de fogo proveniente do bico de Bunsen. O material foi coberto com o corante cristal violeta, onde foi deixado por 10 minutos em repouso para impregnação do corante no esfregaço, o excedente do corante foi retirado e os esfregados foram cobertos com uma solução de lugol, onde foi deixado agir por mais 5 minutos. Após, o excesso de lugol foi retirado dos esfregaços com a ajuda de água corrente, onde também foi aplicado uma solução alcóolica descorante. O material foi submetido, após a secagem, a uma aplicação da solução corante fucsina de Ziehl, onde foi deixado por 30 segundos e logo após teve o excesso retirado. Ainda, o material foi lavado em água corrente para retirar o excedente do corante fucsina de Ziehl. Por fim, os esfregaços foram deixados para secar e, ao final, foram feitas suas análises para aferir a qual classificação de coloração de Gram cada bactéria pertencia.

4.9 Caracterização bioquímica dos isolados

A caracterização bioquímica dos isolados foi realizada para avaliação de dois importantes parâmetros comumente encontrados em rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, sendo eles: produção de acidoindolacético (AIA) e solubilização de fosfato.

4.9.1 Produção de acidoindolacético (AIA)

Neste método colorimétrico adaptado por Bric et al. (1991) foram utilizados os seguintes meios e soluções:

(A) Meio Caldo Triptona de Soja – TSB, diluído 10 vezes [composto por (g/L): Caseína (17,0), NaCl (5,0), Peptona (3,0), HK₂O₄P (2,5), C₆H₁₂O₆.H₂O (2,5), pH (7,0)], acrescido de 15 g de ágar por L de H₂O destilada (1/10 TSB);

(B) Solução de Salkowski: foi diluído 1 ml de solução de FeCl_{3,6}H₂O 0.5 molar, em 50 ml de HClO₄ a 35%;

(B1) Solução de FeCl_{3,6}H₂O 0.5 molar: foi dissolvido em um balão volumétrico de 1 L, 135 g de FeCl_{3,6}H₂O em um pouco de água, posteriormente, foi agitado manualmente e completado até o volume de 1 L de água.

Para o procedimento, as bactérias foram transferidas para placas contendo 1/10 de meio TSB enriquecido com 5 mM de Triptofano (1021 g por L). O triptofano é precursor do acidoindolacético. Cada placa foi dividida em 4 partes, onde, foram utilizados 4 isolados por placa. Após serem aplicados nas placas, os isolados foram cobertos com membranas de nitrocelulose e incubados a 28°C por 24 h. Passado esse tempo, as membranas foram passadas para outra placa com a solução de Salkowski, onde foi, possível ou não, a visualização de halo avermelhado característico quando há produção de acidoindolacético por bactérias, após período de incubação variável entre 30 min a 2 h. Os testes foram feitos em duplicata.

4.9.2 Solubilização de fosfato

Os isolados triados foram cultivados a 28°C por 24 h em meio Caldo Triptona de Soja – TSB [composto por (g/L): Caseína (17,0), NaCl (5,0), Peptona (3,0), HK₂O₄P (2,5), C₆H₁₂O₆.H₂O (2,5), pH (7,0)]. Após serem cultivados por 24h, os isolados foram passados para placa sólida contendo o meio NBRIP adaptado por Nautiyal (1999), a saber [glicose, 10 g; Ca₃(PO₄)₂ 5 g; MgCl₂.6H₂O 5 g; MgSO₄.7H₂O 0,25 g; KCl, 0,2 g e (NH₄)₂SO₄ 0,1 g; pH 7,0] com o auxílio de palitos de madeira esterilizados previamente, para atestar a capacidade de solubilização de fosfato. Cada placa sólida contendo o meio NBRIP foi dividida em 4 partes, sendo assim, possível a avaliação de 4 isolados por placa. Os testes foram feitos em duplicata. As análises de solubilização de P foram realizadas posteriormente segundo Inui et al. (2012).

4.10 Ensaio com plantas: influência dos microrganismos no crescimento de soja, milho e alho

As sementes da Soja (*Glycine max*), e milho (*Zea mays*), foram fornecidas pela Coopercitrus, Cooperativa de Produtores Rurais de Bebedouro. O plantio foi realizado em tubetes de 290 cm³, contendo como substrato vermiculita autoclavada a 120 °C por 30 minutos.

O delineamento experimental foi traçado tendo 4 repetições para cada um dos 5 isolados mais promissores na triagem morfológica e bioquímica feita anteriormente, além de um controle negativo realizado com H₂O e um controle positivo realizado com a bactéria *Burkholderia cepacia*.

As sementes de ambas as culturas e também os bulbilhos de alho foram previamente desinfetados com álcool a 70% e hipoclorito de sódio a 4%, seguidos de três lavagens em H₂O antes da semeadura (Vicent, 1970). Foram utilizadas 4 sementes para cada tubete no momento do plantio.

Após a germinação, o desbaste foi realizado deixando somente uma muda por tubete. Nesta fase, foi inoculada uma suspensão de meio Caldo Tripton de Soja – TSB contendo 10⁹UFC/ml em cada base de planta, de cada um dos 5 microrganismos, além, é claro, dos controles positivo e negativo, em todas as devidas repetições. A contagem de células foi realizada utilizando o método de diluição seriada.

A irrigação foi realizada diariamente com 50 ml de H₂O por tubete. As plantas de soja e milho receberam, nos 1º, 7º, 14º, 21º dias, 10 ml de solução de Hoagland e Arnon (1950) cada, já as plantas de alho receberam nos seus 1º, 7º, 14º dias, também 10 ml da mesma solução cada. Após 28 dias de semeadura foi realizada a coleta das amostras de soja e milho e, após 21 dias, foi realizada a coleta de amostras de alho.

Os dados provenientes dos ensaios de plantação foram analisados através do pacote ExpDes.pt, versão do software R 4.2.2. Sendo assim, foi possível realizar a comparação dos tratamentos dos isolados e seus respectivos controles por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.11 Extração de DNA genômico

O protocolo utilizado foi baseado nos métodos descritos por Marmur (1961), com adaptações. Células foram lisadas na presença de lisozima (20 mg/ml) e RNase (50 µg/ml) com dodecil sulfato de sódio (SDS) 25% (p/v) e acetato de sódio 3 M pH 5,2. A extração orgânica foi realizada com 650 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) (v/v). Os tubos foram centrifugados em centrífuga Eppendorf 5804r a 20817xg, na temperatura de 4°C por 15 min. O DNA foi precipitado com dois volumes de etanol absoluto gelado. O sedimento foi lavado com 1,0 ml de etanol 70% gelado. O DNA foi quantificado em Nanodrop 1000 Spectrophotometer (ThermoScientific – Uniscience) e avaliado quanto a integridade por eletroforese em gel de agarose 0,8% (p/v) contendo brometo de etídio (0,5 µg/ml).

4.12 Reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação do gene 16s rRNA dos isolados selecionados

Os DNAs genômicos extraídos dos isolados tiveram os genes 16S rRNA amplificados por Reação em Cadeia da Polimerase - (PCR), para a identificação do gênero a que pertenciam. Foram aplicados os oligonucleotídeos iniciadores (primers) universais fD1 e rD1 (WEISBURG et al., 1989), segundo a seguinte reação: 40,0 ng DNA molde; 7,5 pmol de cada primer universal; 1,75 mM MgCl₂; 0,2 mM de Desoxirribonucleotídeos Trifosfatos (dNTPs); 2,0 µl de Tampão 10X; 1U da enzima Taq DNA Polimerase (Invitrogen); em um volume final de 20 µL. O programa de amplificação foi: 94°C/5 min; 35 ciclos a 94°C/30 s, 56°C/40 s, 72°C/90 s; 72°C/7 min, realizados em um termociclador PTC-100™ Programmable Thermal Controller (MJ Research, Inc.). O tamanho e pureza dos amplicons gerados foram verificados por eletroforese [Agarose 1,5 % (p/v)] e o DNA também foi quantificado em Nanodrop 1000 Spectrophotometer (ThermoScientific – Uniscience)

4.13 Purificação, sequenciamento e análise de dados dos genes 16s rRNA

Após PCR para amplificação, o material foi purificado com o kit Purelink Quick Gel Extraction e PCR Purification da marca Invitrogen, como mandam as especificações do protocolo. Em seguida, o produto de purificação foi mandado para sequenciamento no CREBIO (Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica), seguindo o protocolo desenvolvido por Mena et al. (2006). O processo tornou possível o sequenciamento de até 679 pares de bases após o tratamento dos dados obtidos da sequência. Posteriormente, foi realizada a comparação por similaridade

com sequências disponíveis no *GenBank* do NCBI (*National Center for Biotechnology information*) usando a ferramenta BLAST N, com o objetivo de verificar a similaridade dos sequenciamentos dos isolados com os dados já disponíveis no banco de dados até o presente ano.

5. RESULTADOS

5.1 Análise físico-química do solo

A análise física das amostras solo demonstrou que as amostras de solo de alho apresentam maior porcentagem de argila comparadas as amostras de cana-de-açúcar, com as amostras G1 e G2 chegando a quase o dobro de porcentagem. O mesmo acontece com a quantidade de silte presente nas amostras, onde é demonstrado na tabela que as amostras de alho também apresentam maior proporção que as amostras de cana-de-açúcar. Por outro lado, a porcentagem total de areia é maior em todas as amostras de solo de cana-de-açúcar, onde chega a ser mais do que dobrada em todas as amostras em relação ao solo de alho. Em relação à granulometria, as amostras de cana-de-açúcar possuem maior porcentagem tanto em areia grossa quanto em areia fina, quando comparadas com as amostras de alho (Tabela1) Os outros padrões físicos de análise não foram anotados.

Tabela 1: Análise física das amostras de solo de alho e cana-de-açúcar, respectivamente.

Grid	CLAY	SILT	SAND FRACTION							Flocculation degree	Dispersion degree
			TOTAL SAND	VTS	CS	MS	FS	VFS	Clay dispersed in water		
G 1	58	15	27	-	6	-	21	-	-	-	-
G 2	58	18	24	-	5	-	19	-	-	-	-
G 3	53	20	27	-	6	-	21	-	-	-	-
G 4	56	21	24	-	6	-	18	-	-	-	-
S 1	30	0	69	-	27	-	43	-	-	-	-
S 2	30	1	69	-	23	-	46	-	-	-	-
S 3	30	1	69	-	26	-	43	-	-	-	-
S 4	30	2	68	-	25	-	43	-	-	-	-

Obs: (CS: corresponde a % de areia grossa em cada amostra); (FS: Corresponde a % de areia fina em cada amostra).

As amostras A (A1, A2, A3 e A4) apresentam valores mais elevados de pH, variando de 5,9 a 6,5, enquanto as amostras C (C1, C2, C3 e C4) têm pH mais ácido ainda, entre 5 e 5,2. Um pH mais alto indica menor acidez do solo, porém,

como constatado, aqui as amostras para ambas as culturas são consideradas ácidas. A matéria orgânica (M.O.) é maior nas amostras A, com valores entre 24 e 28 g/dm⁻³, em comparação com as amostras C, que variam de 16 a 19 g dm⁻³. A matéria orgânica é um indicador importante da qualidade do solo, pois atua como fonte de nutrientes e melhora a estrutura do solo. Os teores de fósforo (P) são mais elevados nas amostras A, chegando a 111 mg dm⁻³ na A3, enquanto nas amostras C os valores ficam entre 10 e 17 mg dm⁻³. O fósforo é um nutriente primordial para o desenvolvimento das plantas. As bases trocáveis, como cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K), apresentam concentrações mais altas nas amostras A. A soma de bases varia de 50,5 a 71,7 mmolc dm⁻³ nas amostras A, enquanto nas amostras C fica entre 23,5 e 27,4 mmolc dm⁻³. Essas bases são importantes para a nutrição vegetal, pois solos com maior quantidade de bases são considerados mais produtivos. A saturação por bases (V%) é maior nas amostras A, entre 76 e 83%, em comparação com as amostras C, que variam de 50% a 53%. A saturação por bases indica a proporção de cargas negativas do solo ocupadas por cátions básicos. O alumínio trocável (Al) não foi detectado em nenhuma das amostras. O alumínio em excesso pode ser tóxico para as plantas. Por último e não menos importante, a capacidade de troca catiônica (CTC) também seguiu os padrões anteriores, sendo maior nas amostras A, com números entre 72,5 a 87,1 mmolc dm⁻³, enquanto que as amostras C permearam entre 47,4 a 51,8 mmolc dm⁻³. A capacidade de troca catiônica é de suma importância, uma vez que solos com alta CTC têm maior capacidade de retenção e disponibilizam cátions importantes para o crescimento das plantas, ajudando em sua nutrição, fortalecimento e crescimento. Portanto, as amostras A apresentam melhores características químicas para a fertilidade do solo, como pH, matéria orgânica, fósforo, bases trocáveis e saturação por bases, além da capacidade de troca catiônica, em comparação com as amostras C (Tabela 2).

Tabela 2: Análise química de solo de macronutrientes presentes em amostras de alho e cana-de-açúcar, respectivamente.

	pH	M.O.	P	S	Ca	Mg	Na	K	Al	H+Al	Bases Sum	CEC	Sat.	Sat.
										SMP	S.B.		Bases	Al
Grid	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³					mmol _c dm ⁻³					V%	m%
G 1	6,0	25	79	4	37	8	ns	5,3	0	22	50,5	72,5	70	0
G 2	5,9	28	103	6	47	9	ns	6,7	0	20	62,8	82,7	76	0
G 3	6,5	24	111	4	49	11	ns	4,1	0	13	63,7	77,1	83	0
G 4	6,4	27	108	4	55	13	ns	4,1	0	15	71,7	87,1	82	0
S 1	5,2	19	17	7	19	7	ns	1,7	0	24	27,4	51,8	53	0
S 2	5,2	17	11	6	17	7	ns	1,4	0	23	24,7	47,9	52	0
S 3	5,0	16	10	7	16	6	ns	1,4	0	24	23,5	47,4	50	0
S 4	5,1	16	11	8	17	7	ns	1,7	0	24	25,9	49,8	52	0

Obs: (CTC: Capacidade de Troca Catiônica).

Ainda sobre as propriedades químicas da fertilidade do solo, os micronutrientes seguiram os resultados anteriores e foram melhores em geral no grupo de amostras A que correspondem ao Alho, em detrimento do grupo de amostras C que dizem respeito a cana-de-açúcar. As amostras A apresentaram teores de boro variando de 0,25 a 0,45 mg/dm³, enquanto as amostras C possuem valores entre 0,27 a 0,36 mg/dm³. O cobre também apresentou valores que variaram entre 1,8 a 2,4 mg/dm³ de cobre, enquanto as amostras C apresentam valores de 0,1 a 0,2 mg/dm³. Os teores de ferro variam de 5 a 13 mg/dm³ nas amostras A e de 14 a 21 mg/dm³ nas amostras C, aqui, as amostras C apresentaram, em média, maiores concentrações de ferro em comparação às amostras A. No que diz respeito ao manganês, amostras A continham de 3,6 a 9,0 mg/dm³ de manganês, enquanto as amostras C possuem valores entre 0,9 a 1,1 mg/dm³. Por fim, os níveis de zinco variaram de 0,9 a 1,5 mg/dm³ nas amostras A e de 0,5 a 0,6 mg/dm³ nas amostras C. Sendo assim, as amostras A apresentaram teores significativamente mais elevados de boro, cobre, manganês e zinco em relação às amostras C. Por outro lado, as amostras C continham maiores concentrações de ferro (Tabela 3).

Tabela 3: Análise química de solo de micronutrientes presentes em amostras de alho e cana-de-açúcar, respectivamente.

	Boron	Copper	Iron	Manganese	Zinc
Grid	mg dm ⁻³				
G 1	0,35	1,8	6	6,3	0,9
G 2	0,45	2,4	6	9,0	1,0
G 3	0,38	2,0	13	4,0	1,2
G 4	0,25	1,8	5	3,6	1,5
S 1	0,36	0,2	21	1,1	0,5
S 2	0,35	0,2	14	0,9	0,6
S 3	0,33	0,1	14	0,9	0,5
S 4	0,27	0,1	14	0,9	0,5

5.2 Afiliação taxonômica e diversidade das amostras de solo de cana-de-açúcar e alho

A composição taxonômica dos solos de cultivo de cana-de-açúcar e alho apresentaram poucas diferenças em nível de filo, sendo os filos Actinobacteria e Proteobacteria os mais representativos (Fig. 1A). No solo de cana-de-açúcar, o filo Actinobacteria apresentou um valor de 41.44% e Proteobacteria 33.73%, enquanto no solo de alho, os mesmos grupos apresentaram 39.54% e 35.95% respectivamente. Entre os demais filos, menos representativos, Planctomycetota, Firmicutes, Bacteroidota, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, Euryarchaeota, Deinococcus-Thermus, Verrucomicrobia, Cyanobacteria, Chloroflexi somam 7.01% nos solos de cana-de-açúcar e 6.73% nos solos de alho. Com relação a abundância relativa em nível de gênero, a distribuição entre solos de cana-de-açúcar e alho apresentaram poucas diferenças entre os top 12 gêneros (Fig. 1B). Os gêneros mais abundantes foram *Streptomyces*, *Bradyrhizobium*, *Nocardioide*s, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Mycolicibacterium*, *Conexibacter*, *Micromonospora*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter* e *Microbacterium*, respectivamente. Os gêneros *Streptomyces*, *Bradyrhizobium* e *Nocardioide*s representam mais de 50% dos gêneros identificados. Na cultura de cana-de-açúcar, a abundância relativa destes é de 31,73% para *Streptomyces*, 16,40% para *Bradyrhizobium* e 7,85% para *Nocardioide*s. Já nos solos cultivados com alho, as proporções são de 29,25%, 14,56% e 13,49% para os mesmos gêneros, respectivamente.

Com relação à riqueza e à diversidade microbiana, observou-se que o solo utilizado no cultivo de cana-de-açúcar apresentou menores valores desses indicadores, em contraste com o solo de cultivo de alho, que exibiu valores mais elevados tanto de riqueza quanto de diversidade (Fig. 1C-D). A análise da estrutura da composição microbiana revelou diferenças significativas e expressivas entre os solos de cana-de-açúcar e alho, indicando que os grupos microbianos presentes nesses ambientes são bastante distintos (Fig. 1E). Além disso, foi notado que o solo de cultivo de alho apresenta maior variabilidade entre as amostras em comparação com os solos de cultivo de cana-de-açúcar, que demonstram uma composição mais uniforme.

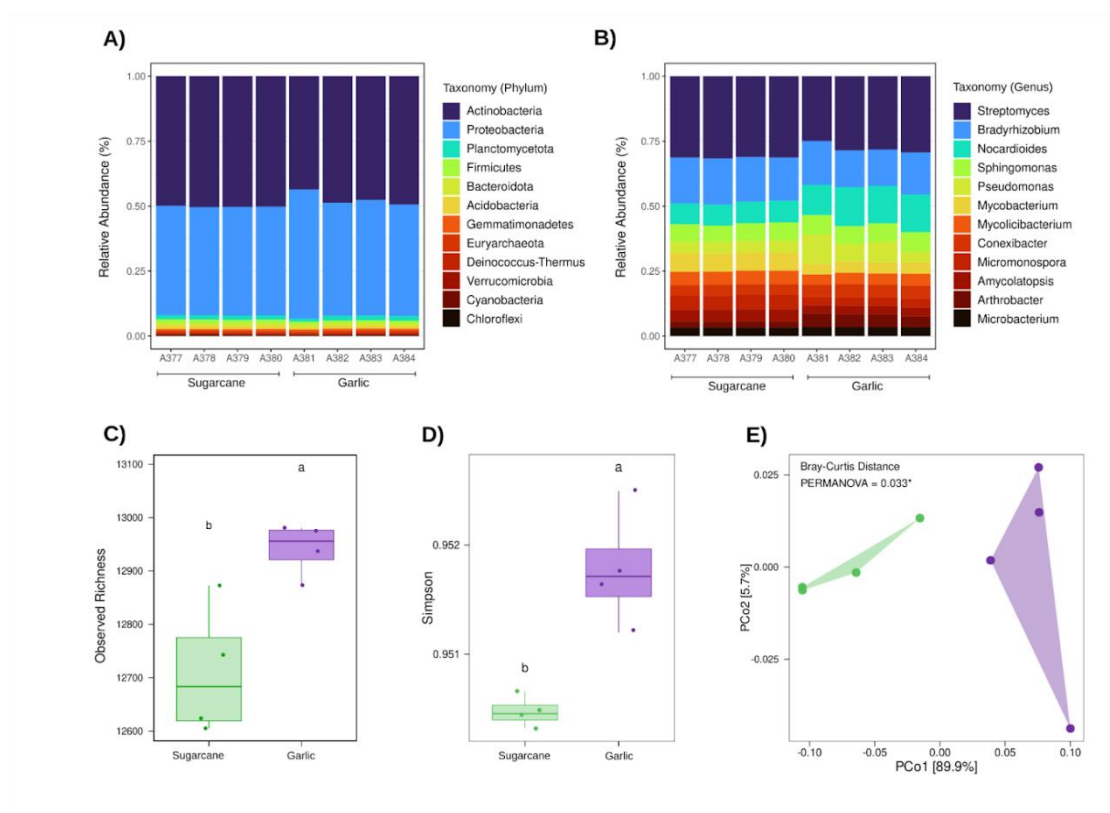


Figura 1: Afiliação taxonômica comparativa e índices de diversidade envolvendo as amostras agricultáveis de solo de cana-de-açúcar e alho, respectivamente. Gráfico de barras empilhadas representando a abundância relativa dos filos presentes nos dois tratamentos (A); Gráfico de barras empilhadas representando a abundância relativa dos principais gêneros presentes nos dois tratamentos (B); Riqueza e diversidade Shannon dos dois tratamentos (C-D); Estrutura da comunidade microbiana por Análise de Coordenadas Principais por distância de Bray-Curtis (E).

Embora a abundância relativa em nível de filo e gênero tenha sido aparentemente semelhante, uma análise de abundância diferencial revelou que os solos cultiváveis de alho e cana-de-açúcar apresentam bastante gêneros distintos entre eles (Fig. 2A). Os solos de cultivo de cana-de-açúcar apresentaram 579 táxons diferenciais, ou seja, estatisticamente diferentes dos solos de cultivo de alho. Já o solo de cultivo de alho apresentou 299 táxons diferenciais. Os organismos estatisticamente diferenciais mais abundantes no solo de cana-de-açúcar foram *Streptomyces*, *Bradyrhizobium*, *Mycobacterium*, *Micromonospora*, *Amycolatopsis*, *Actinoplanes*, *Actinomadura*, *Mycolicibacterium*, *Dactylosporangium*, *Nonomuraea* e *Pseudonocardia* (Fig. 2B). Por outro lado, com relação aos táxons diferenciais no

solo de cultivo de alho, os gêneros *Nocardioides*, *Variovorax*, *Arthrobacter*, *Luteitalea*, *Conexibacter*, *Ramlibacter*, *Acidovorax*, *Sphingomonas*, *Capillimicrobium*, *Hydrogenophaga*, *Polaromonas*, *Paraconexibacter* e *Baekduia* foram mais abundantes. A análise de redes de co-ocorrência revelou diferenças significativas na complexidade das comunidades microbianas entre os solos utilizados para o cultivo de cana-de-açúcar e alho. Os solos de cana-de-açúcar apresentaram uma estrutura mais simples com 316 nós (representando diferentes táxons) e 727 arestas (indicando relações entre eles), conforme ilustrado na Figura 2C. Nesse ambiente, cada organismo interage, em média, com 4.6 outros táxons, com 62.31% dessas interações sendo positivas. Em contraste, os solos de cultivo de alho mostraram uma complexidade muito maior, com 687 nós e 19,666 arestas. Isso indica que cada organismo nesse solo interage em média com 57.252 outros táxons, com 59.03% das interações sendo positivas. Esses resultados destacam uma diversidade e uma interconectividade substancialmente maiores na comunidade microbiana dos solos de alho em comparação com os solos de cana-de-açúcar.

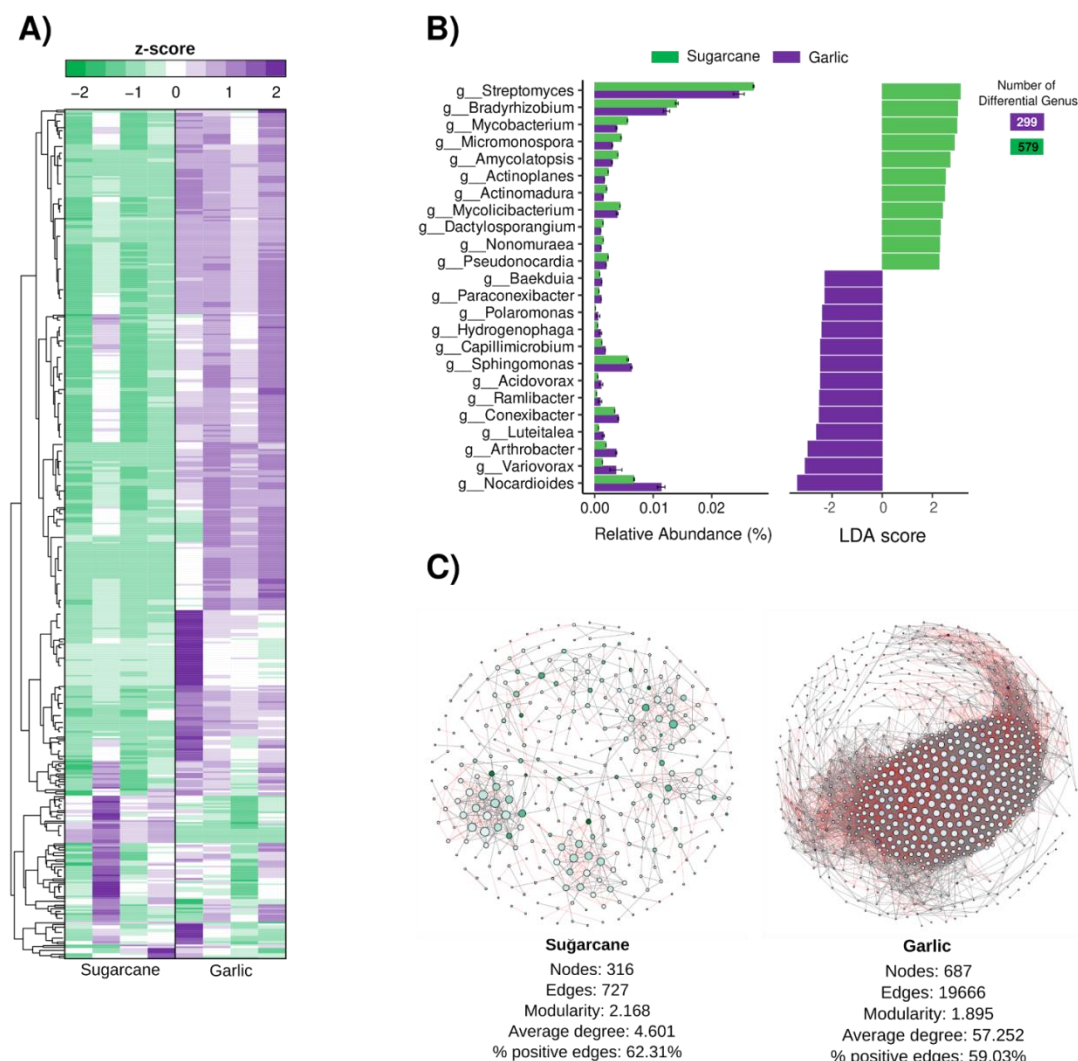


Figura 2. Análise de abundância diferencial entre os solos de cultivo de cana-de-açúcar e alho. Mapa de calor (Heatmap) abrangendo os gêneros diferencialmente abundantes nos dois tratamentos (A); Gráfico de barras abrangendo a abundância diferencial dos grupos mais abundantes entre os dois tratamentos (B); Redes de co-ocorrência entre os solos dos dois tratamentos (C).

5.3 Anotação funcional de genes envolvidos na promoção do crescimento de plantas

O perfil funcional das amostras de solo indicam que funções associadas com o “Carboidratos”, “Aminoácidos e derivados”, “Metabolismo do fósforo”, “Subsistemas baseados em cluster”, “Membranas de transporte” e “Cofatores, Vitaminas, Grupos Protéticos, Pigmentos”, e “Metabolismo de proteínas” representaram cerca de 68.70% das sequências do metagenoma. Genes associados ao metabolismo de “Carboidratos”, apresentaram uma presença similar

entre os dois solos, com 7.56% no solo de cana-de-açúcar e 7.90% no solo de alho. Entretanto, a categoria "Aminoácidos e derivados" mostrou uma variação maior, representando 4.44% no solo de cana-de-açúcar e aumentando para 8.41% no solo de alho. A categoria "Metabolismo do fósforo" apresentou a maior discrepância, sendo quase inexpressiva no solo de cana-de-açúcar com apenas 0.38%, enquanto no solo de alho atingiu 7.45%. Além disso, os "Subsistemas baseados em cluster" também tiveram uma maior representatividade no solo de alho, com 4.70%, comparado a 2.57% no solo de cana-de-açúcar. Outras categorias como "Transporte através de membranas" e "Cofatores, Vitaminas, Grupos Protéticos, Pigmentos" mostraram pequenas variações entre os dois tipos de solo, com respectivamente 2.47% e 3.51% para o primeiro e 2.55% e 3.35% para o segundo no solo de cana-de-açúcar e alho. Por fim, a abundância de genes ligados ao "Metabolismo de proteínas" foi maior no solo de cana-de-açúcar, com 3.35%, em comparação a 2.50% no solo de alho.

Por outro lado, funções específicas analisadas de acordo com a literatura e interesse deste estudo, apresentaram abundância de genes como 6-phosphogluconate dehydrogenase (*PGD*), *gnd*, *gntZ*, envolvida na via da pentose fosfato; *ppk1*, onde sua função é codificar a enzima polifosfato quinase 1, que converte polifosfatos em trifosfato de adenosina (ATP); aromatic-L-amino-acid/L-tryptophan decarboxylase (*TDC*), que desempenha um papel crucial na biossíntese de triptofano e outros compostos aromáticos; (*iscU*, *nifU*), associado à fixação de nitrogênio e à montagem de complexos de ferro-enxofre; (*gnl*, *RGN*) está associado à hidrólise da gluconolactona; O gene *phoD* que codifica a enzima fosfatase alcalina D (*PhoD*), responsável pela hidrólise de fosfatos orgânicos em solos e águas e por fim, o gene *ppx* que codifica a enzima exopolifosfatase, envolvida na degradação de polifosfatos, para a liberação de fosfato inorgânico. Outros genes de interesse foram encontrados ainda que em menor abundância, mas ainda assim com certa expressão, como demonstrado na figura 3B.

Foram ainda, anotadas individualmente a taxonomia de função de quatro genes importantes para a promoção do crescimento de plantas, respectivamente: *nifU*, um dos sub-genes associado à fixação de nitrogênio em bactérias, como dito anteriormente; o gene *ppk* que codifica a enzima polifosfato quinase, envolvido na síntese e degradação de fosfatos; o gene *acdS*, relacionado à

enzima "1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase" (ACC deaminase), encarregada de regular o nível de etileno nas plantas e, por fim, o gene *TDC* que, associado a enzima de mesmo nome, colabora para a síntese de triptofano, aminoácido essencial para o crescimento de plantas. Relacionado à distribuição taxonômica de funções, é possível notar que tanto o gene *NifU* quanto *ppk* apontam como os mais bem distribuídos taxonomicamente (15 gêneros), seguidos pelo gene *TDC* (6 gêneros) e *acdS* (4 generos).

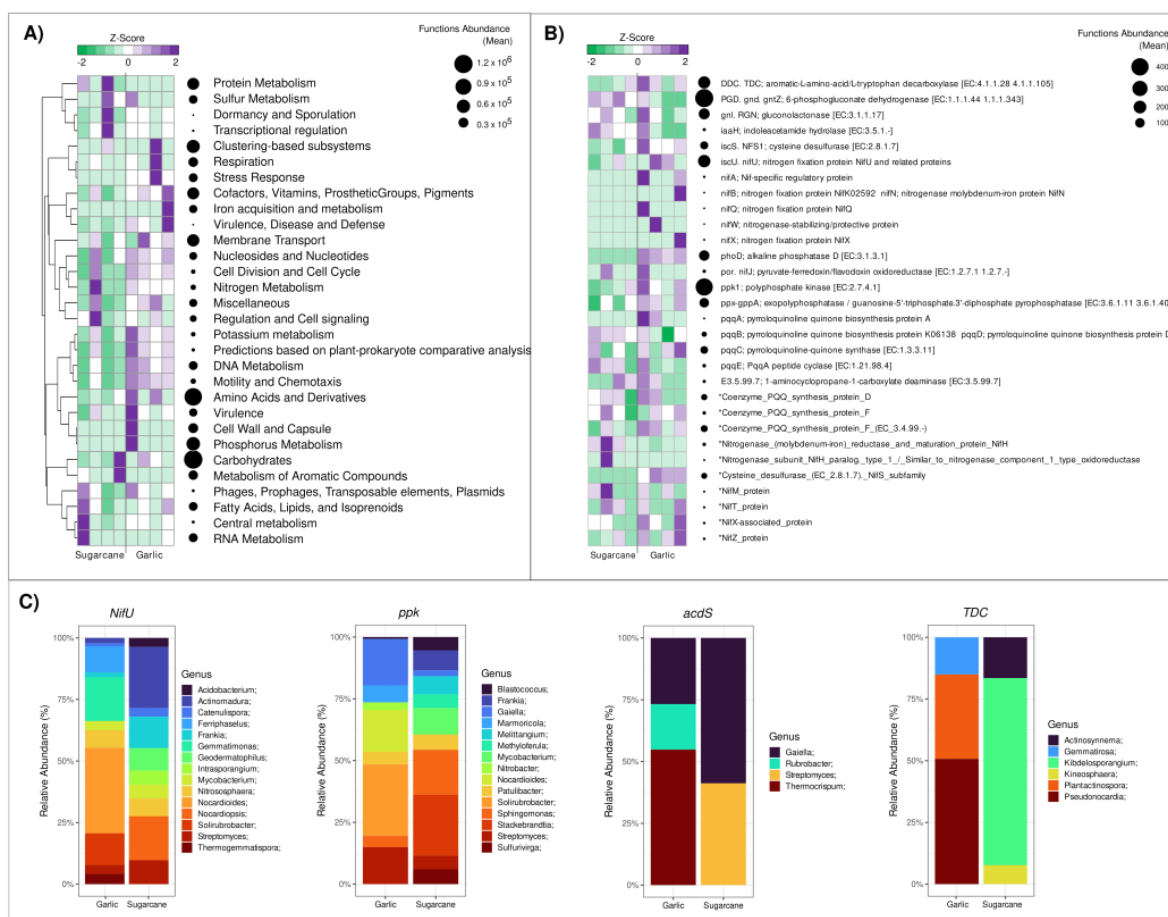


Figura 3. Perfil funcional dos solos de cultivo de cana-de-açúcar e alho. Heatmap da abundância das funções em nível 1 do banco de dados SEED subsystems (A); Heatmap da abundância de funções específicas em nível de genes de acordo com o interesse do estudo (B); Taxonomia associada a funções de interesse associadas a este estudo (C).

5.4 Genomas recuperados de metagenomas e perfil funcional

Neste estudo, foram obtidos 27 genomas montados de metagenomas (MAG's) com alta qualidade (figura 4). Os filos predominantes entre esses MAGs foram Actinomycetota (9 MAGs), Pseudomonadota (4 MAGs) e Gemmatimonadota (4 MAGs). Notavelmente, identificaram-se quatro representantes do filo Thermoproteota, que pertence ao domínio Archaea. A anotação funcional do gene realizada com o pacote *microtrait* revelou diversas guildas ecológicas dentro das MAGs (figura 5). As características predominantes incluíram despolimerização de carboidratos complexos, transporte de íons, tolerância geral ao estresse, tolerância a altas temperaturas e transporte de carboidratos. Certos MAGs, como aqueles pertencentes aos gêneros Chersky-822 (Actinomycetota), Gp1-AA145 (Acidobacteriota), Gaiellaceae (Actinomycetota) e Marmoricola (Actinomycetota), foram particularmente enriquecidos em genes para despolimerização de carboidratos complexos. Uma análise de características mais detalhadas revelou características funcionais intrigantes entre os MAGs (Figura 6).

A anotação de características ecológicas sugeriu uma diversidade nas estratégias metabólicas, com um número significativo de MAGs exibindo metabolismo aeróbico, enquanto outros estavam associados à fermentação e processos anaeróbios, indicando a presença de microambientes anóxicos (Figura 6). Descobriu-se que os MAGs Archaeal da Thermoproteota possuem genes para a oxidação aeróbica de amônia e oxidação de sulfeto. Genes para oxidação e desnitrificação de nitrato em nitrito foram identificados em Dormibacterota e Actinomycetota (bin29 e bin7). Ambas as características de fotossíntese anoxigênica e oxigênica foram observadas em um representante de Pseudomonadota (Polaromonas_bin16). Genes de fosfatase alcalina (*phoD*) foram detectados em MAGs em vários filos, incluindo Chloroflexota, Thermoproteota, Pseudomonadota e Actinomycetota (caixas 17, 19, 22, 23, 26, 3, 30). Além disso, características ligadas à tolerância ao estresse – como alta temperatura, dessecação, pH e resistência ao estresse oxidativo – foram predominantes em muitos MAGs (figura 7). Esta análise abrangente destaca os papéis potenciais dos MAGs nos seus respectivos ecossistemas e nas suas estratégias de adaptação às tensões ambientais.

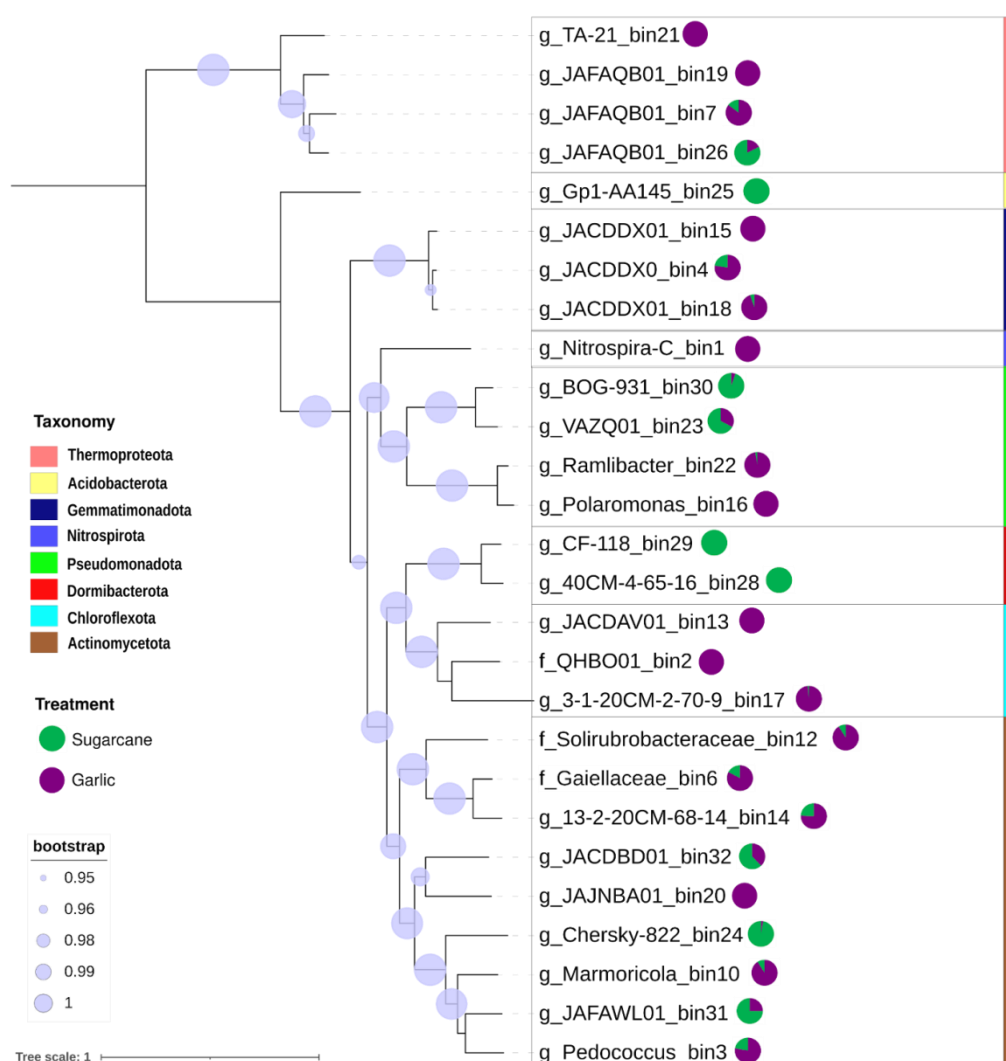


Figura 4: Árvore filogenética baseada na análise de máxima verossimilhança de genomas montados a partir de metagenomas (MAGs). O tamanho dos círculos azuis indica os níveis de confiança do bootstrap, enquanto as cores das caixas denotam diferentes filos.

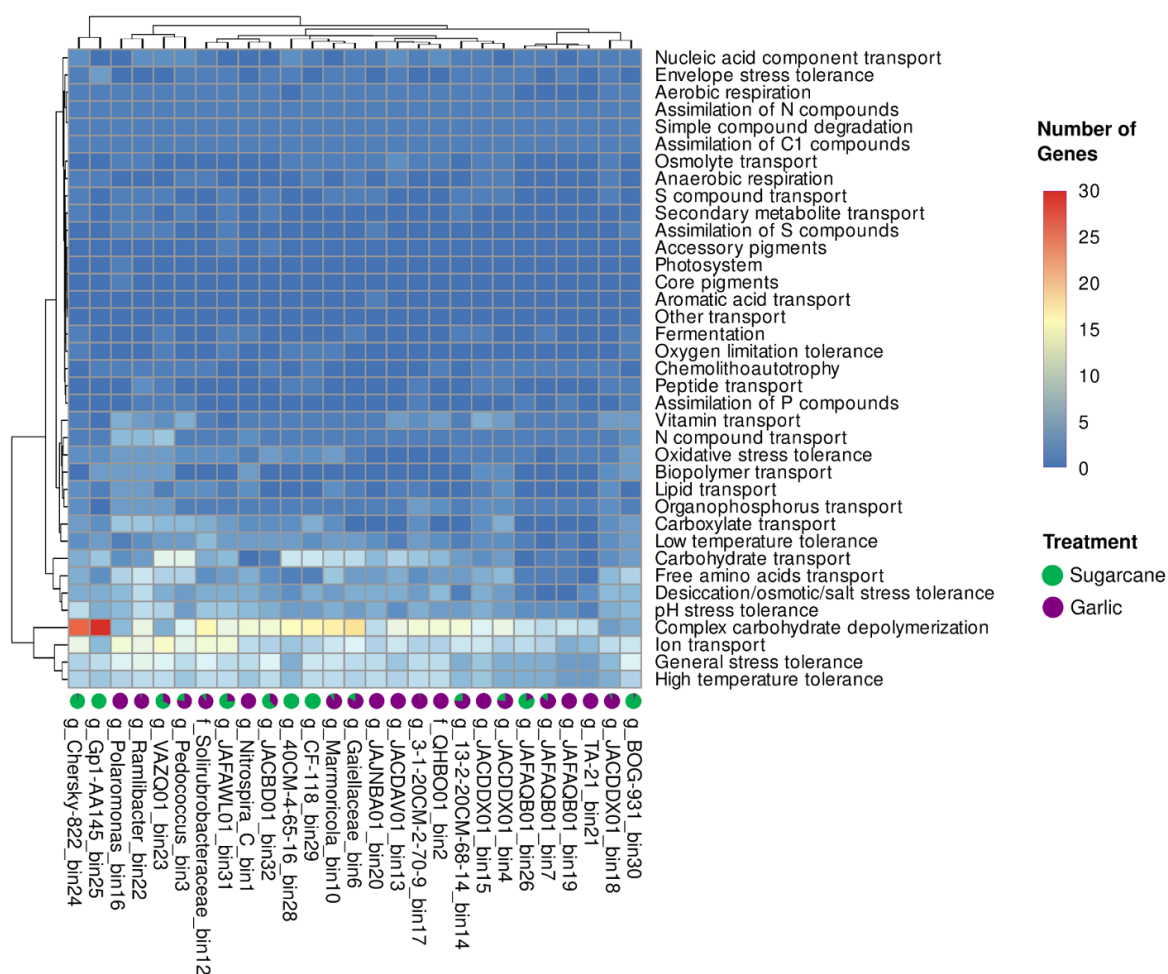


Figura 5: Heatmap representando anotações de características em genomas montados a partir de metagenomas (MAGs). Este Heatmap resume as características funcionais identificadas nos MAGs, conforme anotado usando o pacote microtrait.

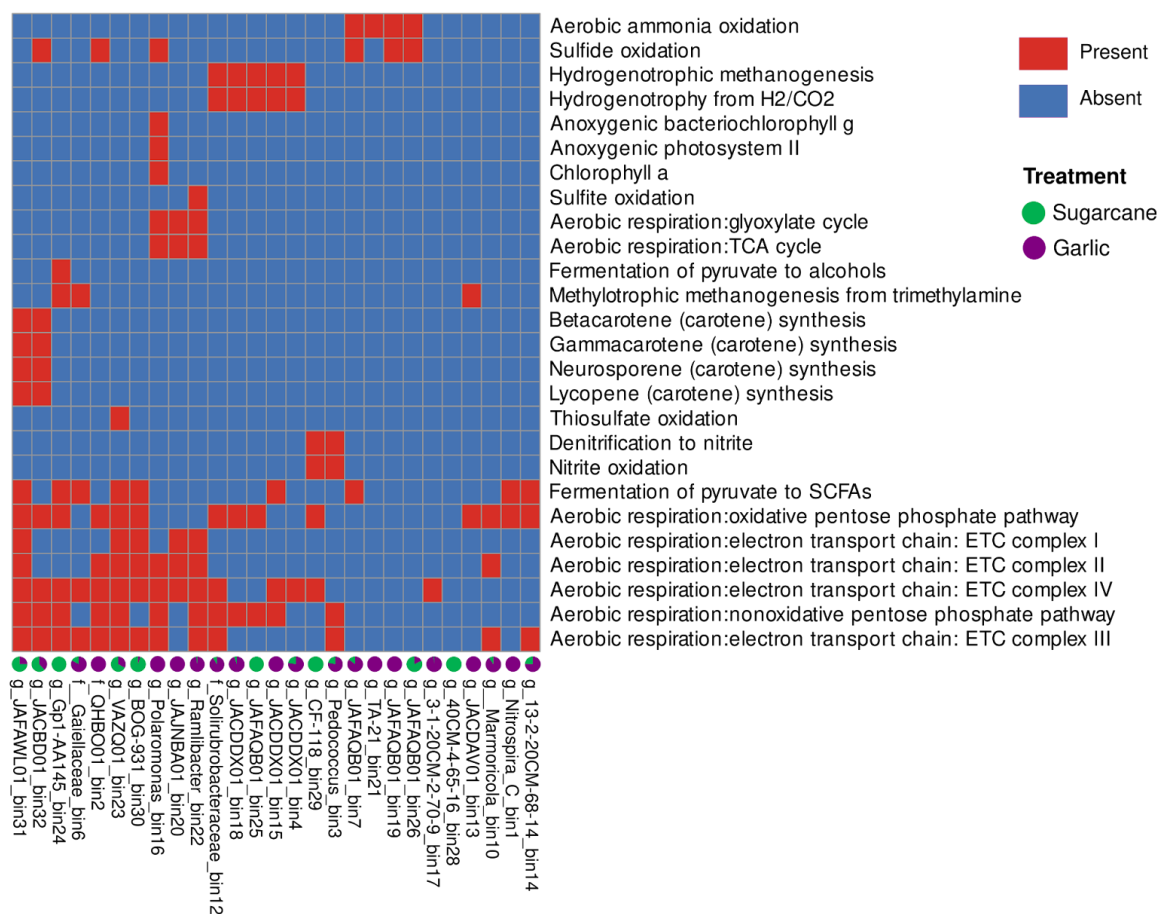


Figura 6: Heatmap detalhada de características funcionais microbianas em genomas montados a partir de metagenomas (MAGs). Esta Heatmap fornece uma visão aprofundada das funções associadas à tolerância ao estresse, identificadas nos MAGs, com base em uma análise mais granular usando o pacote microtrait. Cada coluna representa um MAG único, enquanto as linhas correspondem a funções microbianas distintas, mostrando a diversidade e especificidade da distribuição das características.

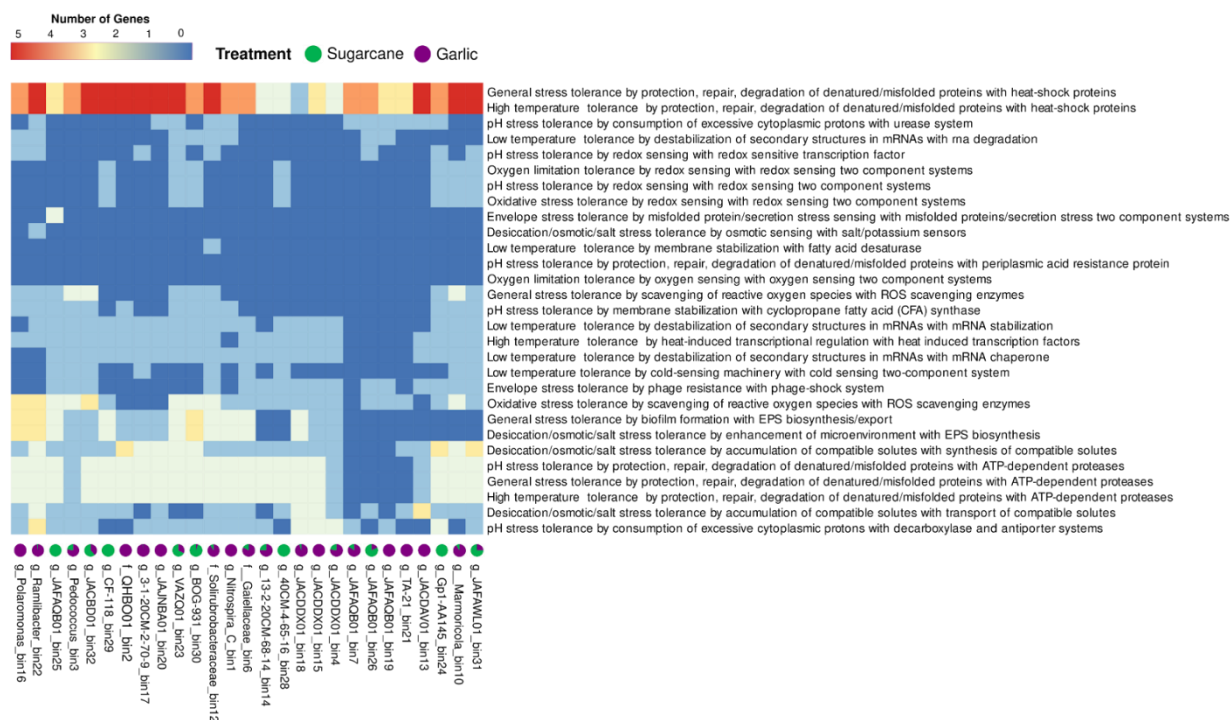


Figura 7: Heatmap detalhada de características funcionais microbianas em genomas montados a partir de metagenomas (MAGs). Esta Heatmap fornece uma visão aprofundada das funções associadas à aquisição de nutrientes identificadas nos MAGs, com base em uma análise mais granular usando o pacote microtrait. Cada coluna representa um MAG único, enquanto as linhas correspondem a funções microbianas distintas, mostrando a diversidade e especificidade da distribuição das características.

5.5 Caracterização morfológica dos isolados da biblioteca de isolados construída

Cinco tabelas foram criadas como resultado da caracterização morfológica de isolados bacterianos em cinco meios de cultivo diferentes. A quantidade de bactérias que tiveram suas características morfológicas feitas, diferiram-se de acordo com o meio de cultivo utilizado. Foram caracterizados 30 isolados através do meio TY (TRYPTONE YEAST), 39 através do meio KW (KUSTER E WILLIAMS), 40 através do meio TSB (TRYPTICASE SOY BROTH), 28 através do meio BR (BUNT E ROVIRA) e 40 através do meio AN (ÁGAR NUTRIENTE). Os isolados bacterianos foram isolados em diferentes meios de cultura a fim de conseguirmos uma maior variabilidade de espécies bacterianas, tendo em vista que cada meio se difere em composição de reagentes, podendo favorecer ou não o crescimento de espécies diferentes.

Tratando-se das características morfológicas, as colônias isoladas no meio

TY apresentaram sua maioria sendo Gram-positivas, quase todas as colônias apresentaram coloração branca, e todas apresentaram a borda suave. Tratando-se de bordas, a maioria foram consideradas elevadas e de formato circular. Para os isoladas no meio KW, a maioria também foram considerados Gram-positivos, com todos os isolados possuindo a coloração branca, a maioria borda suave, elevação plana e forma circular. Já para os isolados do meio de cultivo TSB, ocorreu de maneira diferente, onde, a maioria das bactérias presentes foram consideradas Gram-negativas. A coloração continuou branca, com predominância da borda suave, elevação elevada e forma circular. No meio BR todos os isolados foram considerados Gram-negativos. Mais uma vez, todas as colônias brancas, com predominância da borda suave, elevação elevada e forma circular. Por fim, o meio AN apresentou em sua maioria isolados Gram-positivos, todos em coloração branca, borda em sua maioria suave, elevação plana e forma circular (Tabelas 4, 5, 6, 7 e 8).

Tabela 4: Morfologia de bactérias isoladas do meio Tryptone yeast (TY).

Isolado	GRAM	Cor da colônia	Borda	Elevação	Forma
LGA-GA-TY01	G+	Branca	Suave	Elevada	Puntiforme
LGA-GA-TY02	G+	Branca	Suave	Elevada	Puntiforme
LGA-GA-TY03	G+	Branca	Suave	Elevada	Puntiforme
LGA-GA-TY04	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TY05	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TY06	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY07	G-	Vermelho	Suave	Elevada	Puntiforme
LGA-GA-TY08	G-	Amarela	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY09	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY10	G+	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TY11	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY13	G+	Branca	Suave	Elevada	Puntiforme
LGA-GA-TY14	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY15	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY16	G+	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-TY17	G-	Amarelo	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TY18	G+	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TY19	G-	Branca	Suave	Convexa	Rugosa
LGA-GA-TY20	G+	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TY21	G+	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TY22	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-TY23	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY24	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY25	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY27	G+	Branca	Suave	Plana	Fusiforme
LGA-GA-TY28	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY29	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TY30	G+	Branca	Suave	Plana	Circular

Obs: LGA-GA (corresponde a sigla do laboratório onde foram realizadas as análises).

Tabela 5: Morfologia de bactérias isoladas do meio Kuster e Willians (KW).

Isolado	GRAM	Cor da colônia	Borda	Elevação	Forma
LGA-GA- KW01	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW02	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW04	G-	Branca	Suave	Convexa	Puntiforme
LGA-GA-KW05	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW07	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW08	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW09	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW11	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW12	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW15	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW16	G+	Branca	Suave	Convexa	Puntiforme
LGA-GA-KW17	G+	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-KW18	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW20	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW21	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-KW23	G+	Branca	Suave	Convexa	Puntiforme
LGA-GA-KW24	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW26	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW28	G+	Branca	Suave	Convexa	Puntiforme
LGA-GA-KW29	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW30	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW31	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW32	G+	Branca	Ondulada	Plana	Circular
LGA-GA-KW34	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW35	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-KW36	G+	Branca	Ondulada	Plana	Irregular
LGA-GA-KW39	G+	Branca	Ondulada	Plana	Circular

Obs: LGA-GA (corresponde a sigla do laboratório onde foram realizadas as análises).

Tabela 6: Morfologia de bactérias isoladas do meio Trypticase Soy Broth (TSB).

Isolado	GRAM	Cor da colônia	Borda	Elevação	Forma
LGA-GA- TSB01	G-	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TSB02	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-TSB03	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TSB04	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB05	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB06	G-	Branca	Ondulada	Plana	Puntiforme
LGA-GA-TSB07	G-	Branca	Ondulada	Elevada	Puntiforme
LGA-GA-TSB08	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB09	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-TSB10	G-	Branca	Ondulada	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB11	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB12	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB14	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TSB15	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-TSB16	G+	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TSB17	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-TSB18	G+	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB19	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB20	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-TSB21	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB22	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB23	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB24	G-	Branca	Suave	Elevada	Puntiforme
LGA-GA-TSB25	G+	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TSB26	G-	Branca	Suave	Elevada	Puntiforme
LGA-GA-TSB27	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TSB29	G-	Branca	Ondulada	Plana	Circular
LGA-GA-TSB30	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-TSB31	G-	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TSB32	G-	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TSB33	G-	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TSB34	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB35	G-	Branca	Suave	Convexa	Circular
LGA-GA-TSB36	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-TSB37	G-	Branca	Erodida	Plana	Circular
LGA-GA-TSB38	G-	Branca	Lobada	Elevada	Irregular
LGA-GA-TSB40	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme

Obs: LGA-GA (corresponde a sigla do laboratório onde foram realizadas as análises).

Tabela 7: Morfologia de bactérias isoladas do meio Bunt e Rovira (BR).

Isolado	GRAM	Cor da colônia	Borda	Elevação	Forma
LGA-GA-BR01	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR02	G-	Branca	Erodida	Elevada	Circular
LGA-GA-BR03	G-	Branca	Lobada	Elevada	Irregular
LGA-GA-BR04	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR06	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR07	G-	Branca	Erodida	Elevada	Circular
LGA-GA-BR08	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR09	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR10	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR11	G-	Branca	Erodida	Elevada	Circular
LGA-GA-BR12	G-	Branca	Lobada	Elevada	irregular
LGA-GA-BR13	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR14	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR15	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR16	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR17	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-BR18	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR19	G-	Branca	Lobada	Elevada	Irregular
LGA-GA-BR21	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR22	G-	Branca	Lobada	Elevada	Irregular
LGA-GA-BR23	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR24	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR27	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-BR28	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular

Obs: LGA-GA (corresponde a sigla do laboratório onde foram realizadas as análises).

Tabela 8: Morfologia de bactérias isoladas do meio Agar Nutriente (AN).

Isolado	GRAM	Cor da colônia	Borda	Elevação	Forma
LGA-GA-AN01	G-	Branca	Ondulada	Elevada	Circular
LGA-GA-AN02	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN03	G-	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-AN04	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN06	G+	Branca	Filamentosa	Plana	Filamentosa
LGA-GA-AN07	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN08	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN09	G-	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN10	G+	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN11	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN12	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN14	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN15	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN16	G+	Branca	Erodida	Plana	Circular
LGA-GA-AN17	G-	Branca	Suave	Elevada	Circular
LGA-GA-AN19	G+	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-AN20	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN23	G-	Branca	Lobada	Plana	Irregular
LGA-GA-AN25	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN26	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN27	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN28	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN29	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN31	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN32	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN33	G-	Branca	Lobada	Plana	Irregular
LGA-GA-AN34	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN35	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN36	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN38	G+	Branca	Suave	Plana	Puntiforme
LGA-GA-AN39	G+	Branca	Suave	Plana	Circular
LGA-GA-AN40	G+	Branca	Suave	Plana	Puntiforme

Obs: LGA-GA (corresponde a sigla do laboratório onde foram realizadas as análises).

5.6 Caracterização bioquímica dos isolados da biblioteca de isolados construída

A caracterização bioquímica dos isolados foi realizada para a compreensão da habilidade destes em duas atividades metabólicas diferentes que fazem parte de bactérias que promovem o crescimento de plantas: solubilização de fosfato e produção de ácido indolacético (AIA). Primeiramente, foi realizado o teste de solubilização de fosfato, onde, os microrganismos que possuíram maior capacidade de solubilização (maior diâmetro do halo de acordo com o teste realizado), seguiram para o segundo teste que foi a produção de ácidoindolacético (AIA). Nesta etapa de testes bioquímicos foram testados 36 isolados, onde todos eles apresentaram capacidade de solubilização de P, e destes, 29 para a produção de AIA, somente os isolados AN06, AN15, AN31, TY02, TY08, TY09 e KW 21 não tiveram tal capacidade conferida. Havia ainda duas testemunhas: B.c: *Burkholderia cepacia* e A.z: *Azospirillum brasiliense* (Tabela 9).

Tabela 9: Resultados dos testes de solubilização de fosfato e produção de ácido indolacético (AIA).

Isolado	Solubilização de P	Halo de solubilização	Produção de AIA
TSB02	+	5,00 mm	+
TSB04	+	2,00 mm	+
TSB06	+	4,00 mm	+
TSB07	+	2,00 mm	+
TSB09	+	2,00 mm	+
TSB10	+	2,50 mm	+
TSB26	+	2,00 mm	+
TSB31	+	1,50 mm	+
TSB38	+	0,50 mm	+
AN01	+	4,00 mm	+
AN02	+	4,00 mm	+
AN04	+	3,00 mm	+
AN06	+	5,00 mm	-
AN10	+	1,00 mm	+
AN15	+	2,00 mm	-
AN16	+	1,00 mm	+
AN31	+	5,50 mm	-
AN33	+	2,00 mm	+
TY02	+	2,00 mm	-
TY04	+	4,00 mm	+
TY05	+	1,00 mm	+
TY08	+	2,00 mm	-
TY09	+	2,00 mm	-
TY18	+	4,00 mm	+
TY19	+	5,00 mm	+
TY20	+	2,00 mm	+
BV04	+	3,00 mm	+
BV06	+	3,50 mm	+
BV07	+	4,00 mm	+
BV09	+	3,00 mm	+
BV12	+	3,50 mm	+
BV13	+	3,00 mm	+
BV15	+	2,50 mm	+
BV17	+	4,00 mm	+
BV24	+	2,50 mm	+
KW21	+	2,00 mm	-
B.c	+	2,00 mm	+
A.b	-	0 mm	-

Obs: B.c: *Burkholderia cepacia* e A.z: *Azospirillum brasiliense*.

5.7 Ensaio com plantas: influência dos microrganismos no crescimento de soja, milho e alho

Após a construção da biblioteca de isolados, triagem morfológica e bioquímica dos mesmos, foram realizados experimentos em casa de vegetação com as culturas de soja, milho e alho no que diz respeito ao peso da massa seca, peso da massa fresca e comprimento, tanto da parte aérea, quanto da raiz de cada uma das culturas mencionadas. Os 5 isolados que mostraram maior capacidade de solubilização de fosfato e produção de ácido indolacético, foram os escolhidos para os testes realizados, além claro, dos controles H₂O e *Burkholderia cepacia*(B.c). A saber, os cinco isolados foram TY19, AN31, BR17, TSB02 e KW21.

No que diz respeito a massa seca, não houveram diferenças estatísticas significativas no peso da parte aérea e raiz da cultura da soja. Em relação à cultura do milho, também não houveram diferenças estatisticamente significativas no peso da massa seca para a parte aérea e, também, para a parte da raiz, visto que o controle positivo, a bactéria *Burkholderia cepacia*, se saiu melhor no teste. Em relação à cultura do alho, também não foram encontradas distinções significativas no peso da massa seca da parte aérea e raiz. (Tabela 10).

Tabela 10. Comparação de Médias entre os diferentes tratamentos para Massa Seca.

Tratamento	Soja		Milho		Alho	
	Parte Aérea	Raiz	Parte Aérea	Raiz	Parte Aérea	Raiz
TY19	0.3175	0.0815	0.8675	0.7925 ^{ab}	0.225	0.07925 ^a
AN31	0.3775	0.0915	0.7025	0.525 ^b	0.108	0.00675 ^b
BR17	0.2525	0.06575	0.6275	0.291 ^b	0.10075	0.017 ^{ab}
TSB02	0.235	0.03875	0.7225	0.3725 ^b	0.1875	0.0655 ^{ab}
KW21	0.265	0.0635	0.61	0.3275 ^b	0.1725	0.025 ^{ab}
Bc	0.4	0.09725	0.74	1.2025 ^a	0.16	0.0535 ^{ab}
H ₂ O	0.2275	0.03775	0.3675	0.3 ^b	0.177	0.043 ^{ab}

Obs: Números seguidos de letras são estatisticamente diferentes a 5% de significância no teste de Tukey.

Em relação ao peso da massa fresca, não foram observadas diferenças significativas e positivas tanto para a parte aérea, quanto para a raiz da cultura da soja. O mesmo aconteceu com a parte aérea e a raiz da cultura do milho, onde não foram encontradas diferenças estatísticas positivas e substanciais em relação ao

controle positivo. Por fim, distinções significativas não foram encontradas também para a cultura do alho. (Tabela 11).

Tabela 11. Comparação de Médias entre os diferentes tratamentos para Massa Fresca.

Tratamento	Soja		Milho		Alho	
	Parte Aerea	Raiz	Parte Aerea	Raiz	Parte Aerea	Raiz
TY19	2.465	0.29 ^{ab}	8.3675	2.5325 ^{ab}	2.3975	0.48 ^{ab}
AN31	2.375	0.3175 ^{ab}	7.27	1.6525 ^{ab}	0.605	0.0425 ^b
BR17	1.51	0.17 ^{ab}	6.4025	0.5325 ^b	0.7075	0.155 ^{ab}
TSB02	1.0475	0.06 ^b	7.5175	1.3825 ^b	1.3425	0.6975 ^a
KW21	1.3675	0.095 ^{ab}	6.77	0.88 ^b	1.5375	0.13 ^{ab}
Bc	2.3925	0.5175 ^a	7.0975	3.545 ^a	1.49	0.335 ^{ab}
H ₂ O	1.87	0.475 ^{ab}	4.005	1.2275 ^b	1.395	0.425 ^{ab}

Obs: Números seguidos de letras são estaticamente diferentes a 5% de significância no teste de Tukey.

Por fim, o último parâmetro utilizado foi o comprimento, onde, não foram observadas, de acordo com o teste de tukey a 5% de probabilidade, nenhuma diferença significativa no comprimento da parte aérea das culturas da soja, milho e alho. O mesmo aconteceu com o comprimento da raiz para as culturas da soja, milho e do alho (Tabela12).

Tabela 12. Comparação de Médias entre os diferentes tratamentos para o comprimento das plantas.

Tratamento	Soja		Milho		Alho	
	Parte Aerea	Raiz	Parte Aerea	Raiz	Parte Aerea	Raiz
TY19	55.475	26.625	67.125	24.125	28.775	14.15 ^a
AN31	55.625	29.75	66.75	23	16.525	2.375 ^b
BR17	33.2	16.15	66.25	22.625	19.525	3.75 ^{ab}
TSB02	40.775	15.925	70.475	23.425	29.125	9.35 ^{ab}
KW21	41.375	23.875	67.025	24.75	28.55	6.475 ^{ab}
Bc	43.9	30.975	61.8	22.925	28.925	10.6 ^{ab}
H ₂ O	56.425	21	47.875	17.375	27.825	11.325 ^{ab}

Obs: Números seguidos de letras são estaticamente diferentes a 5% de significância no teste de Tukey.

Vale ressaltar que os resultados obtidos demonstram que, embora nenhuma das bactérias isoladas do solo de alho tenha superado o controle positivo na promoção do crescimento vegetal, seu desempenho foi estatisticamente semelhante ao deste, que já é uma bactéria amplamente reconhecida por sua eficácia nesse

processo. Esse achado reforça o potencial das isoladas testadas como promotoras de crescimento de plantas.

5.8 Caracterização parcial do gene *16S rRNA* dos 5 isolados escolhidos para teste em casa de vegetação.

Os cinco isolados utilizados para teste em casa de vegetação foram caracterizados parcialmente através do gene *16S rRNA*, a fim de se descobrir a quais gêneros os isolados pertenciam e se, por ventura, pertenciam a gêneros os quais possuem espécies de bactérias com habilidades de promoção de crescimento de plantas. Após o sequenciamento, foi possível descobrir que 4 dos 5 isolados pertenciam ao gênero *Paenibacillus sp.*, sendo 3 deles, pertencentes ao gênero e espécie *Paenibacillus alvei*. Somente 1 isolado, a saber, KW21, pertencia ao gênero das *Pseudomonas sp.* (Tabela13).

Tabela 13: Caracterização parcial do gene *16S rRNA* de isolados do solo utilizados durante os experimentos em casa de vegetação.

Isolado	Comprimento (pB)	Acesso	GenBank Blast	Identidade	E-value
AN31	657	MN543811.1	<i>Paenibacillus alvei</i>	97,37	0
TY19	679	KJ127183.1	<i>Paenibacillus sp.</i>	89,49	0
KW21	588	MT102734.1	<i>Pseudomonas sp.</i>	95,67	0
TSB02	573	MN543811.1	<i>Paenibacillus alvei</i>	97,63	0
BV17	650	MN543811.1	<i>Paenibacillus alvei</i>	96,92	0

6. DISCUSSÃO

Os solos de ambas as amostras demonstraram características físicas diferentes entre si, enquanto o solo das amostras A se mostraram mais argilosos, os solos das amostras C se mostraram mais arenosos. Wang et al. (2005) dizem que um dos principais parâmetros para mensurar a qualidade e produtividade dos solos é a sua textura. Segundo He et al. (2014) e Centeno et al. (2017), a textura do solo impacta diretamente a dinâmica de adesão e coesão entre suas partículas, além de influenciar o manejo do solo. Isso, por sua vez, afeta a resistência do solo à tração e a movimentação da água em seu interior. Ademais, a textura do solo pode ser considerada um fator ambiental significativo, pois tem influência direta nos processos ecológicos, incluindo a ciclagem de nutrientes e a troca de íons. Centeno et al. (2017) ressaltam que determinação da textura do solo é essencial, pois permite estimar uma variedade de parâmetros críticos para otimizar a nutrição do

solo. Entre esses parâmetros estão a capacidade de troca de cátions, a dinâmica da água, a dosagem de corretivos, a resistência do solo à tração, o grau de compactação, e a dosagem de nutrientes e herbicidas. Donagemma et al. (2016) e Centeno et al. (2017) reforçam ainda que, solos arenosos tendem a ser mais suscetíveis à degradação e à perda de capacidade produtiva em comparação aos solos argilosos, quando submetidos a condições ambientais semelhantes. Este fato reforça os dogmas existentes sobre os solos arenosos. No entanto, essa percepção tem mudado recentemente devido aos avanços nos sistemas de produção e manejo, tornando viáveis as atividades agrícolas nesses tipos de solo. Segundo Brady e Weil (2013), solos com textura arenosa apresentam maior deficiência de Ferro (Fe) e matéria orgânica. Estes resultados corroboram com a análise física de solo demonstrada neste trabalho. Uma vez que a decomposição de matéria orgânica é um dos principais fatores de disposição de nutrientes para bactérias e outros microrganismos presentes no solo, estes dados podem corroborar também para o maior índice de riqueza e diversidade mostradas no metagenoma das amostras A, em oposição às amostras C. Além disso, os solos argilosos tendem a ser mais densos e difíceis de gerenciar, devido à resistência à penetração das raízes das plantas e ao uso de equipamentos. Também, a presença de argila está estreitamente relacionada ao aumento do teor de matéria orgânica e à capacidade de troca catiônica do solo (Brady e Weil, 2013; Centeno et al., 2017). Por fim, Centeno et al. (2017) declaram que, atualmente, os solos são produtivos independente de sua textura, devido ao rápido avanço tecnológico dos sistemas de manejo de solo, uma vez que esteja atento também, as necessidades da cultura a ser cultivada.

As análises químicas de ambos os solos demonstraram pH ácido, uma vez que as amostras A se mostraram ligeiramente mais ácidas que as amostras C. Estudos relatam que o pH do solo pode influenciar consideravelmente a estruturação de comunidades microbianas, bem como os processos biogeoquímicos gerenciados por elas. O pH do solo interfere diretamente nos processos químicos, concentração e disponibilidade de substratos, além da modulação da comunidade microbiana ali presente (Fierer e Jackson, 2006; Nicol et al., 2008). De Boer e Kowalchuk, (2001) e Nicol et al. (2008), mostram que os processos pelos quais o pH do solo afeta o desenvolvimento e a atividade de determinados grupos microbianos

funcionais foram elucidados mediante uma combinação de estudos fisiológicos e experimentos com microcosmos do solo. Um exemplo disso é a redução significativa das taxas de nitrificação, especialmente a oxidação da amônia, em solos de caráter ácido. O pH ácido também possui efeitos negativos na germinação de sementes, Long et al. (2024), relataram redução acentuada na taxa de germinação de sementes de *Sophora davidii* e vigor das plântulas em condições de acidez de solo muito altas.

Os níveis de matéria orgânica também foram notados de forma ligeiramente maior nas amostras A. A presença de matéria orgânica no solo tem o potencial de reduzir de forma notável a ação de metais pesados, por meio da criação de complexos organometálicos. Concomitantemente, ela contribui para a melhoria das características físicas e químicas do solo, promovendo um aumento na disponibilidade de nutrientes (Gao et al., 2018; Khan et al., 2018; Liu et al., 2025). A decomposição da matéria orgânica está intimamente ligada com a comunidade microbiana do solo, uma vez que a comunidade faz os serviços ecossistêmicos, regulam a estrutura e a atividade do solo e, por fim, regulam a renovação de entrega de nutrientes ao mesmo. A sobrevivência dos micro-organismos presentes no solo está estreitamente relacionada à qualidade e à quantidade disponível de matéria orgânica. Quando os substratos começam a escassear ou seu fornecimento é interrompido, a comunidade microbiana do solo pode entrar em um estado de dormência, adotando a forma de esporos, ou pode perecer, levando a uma diminuição em sua biomassa total (Nguyen e Marschner, 2016; Shahbaz et al., 2017; Bhattacharyya et al., 2022).

Os macronutrientes foram encontrados bem mais disponíveis em amostras A do que nas amostras C, com exceção do enxofre (S), que foi ligeiramente maior nas amostras C. Os macronutrientes desempenham um papel crucial na sustentação da vida vegetal no planeta Terra. Dada à diversidade de suas funções, os macronutrientes exercem impactos significativos na saúde e na estrutura do solo, assim como na fisiologia das plantas. Por exemplo, a produtividade dos ecossistemas terrestres em escala global é condicionada, individualmente ou em conjunto, pela disponibilidade de nitrogênio (N) e fósforo (P), dada sua importância fundamental na fotossíntese e no metabolismo enzimático. Similarmente, o enxofre

(S) desempenha um papel vital na síntese enzimática de proteínas, contribuindo para a resistência a doenças e para a redução da toxicidade de metais. Outros macronutrientes indispensáveis incluem cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K), os quais atuam como reguladores para manter o pH do solo estável, influenciam a absorção de nutrientes pelas plantas e fortalecem a resistência das plantas a adversidades climáticas. Sendo assim, compreender em profundidade a distribuição desses macronutrientes essenciais no sistema solo-planta é de extrema importância para desenvolver estratégias visando à melhoria da qualidade do solo e à produtividade dos ecossistemas (Olander e Vitousek, 2000; Feechan ET al., 2005; Blum et al., 2013; Hou et al., 2017; Mládková et al., 2018; Du et al., 2020; Niu et al., 2023).

A relação da capacidade de troca catiônica (CTC) foi superior nas amostras A, em oposição às amostras C, que não demonstraram tamanho potencial. A capacidade de troca catiônica (CTC) define os solos pela sua habilidade de armazenar e liberar nutrientes. Nutrientes catiônicos (Ca, Mg, K, Na, Fe e NH_4) e não nutrientes (Al e H) são mantidos nos colóides do solo e transferidos para a solução do solo através de uma reação de troca iônica. Essa reação de troca é fundamental para a medição da CTC, onde os íons presentes na amostra de solo são substituídos por, por exemplo, amônio (Weil e Brady, 2016; Mattila e Rajala, 2022). Brady et al. (2008) e Sharma et al. (2015), relataram que, normalmente, um pH alcalino está associado a uma maior capacidade de troca catiônica (CTC) do solo. Em condições ácidas, a CTC do solo diminui devido à substituição desproporcional de cátions por íons H^+ , resultando na chamada acidez ativa. Além disso, a CTC é influenciada pelo pH, pela textura do solo, pelo tipo de argila presente e pelo teor de matéria orgânica. Areia e silte exibem uma CTC insignificante devido à falta de carga em suas partículas. Portanto, mesmo que as amostras de solo analisadas no presente trabalho possuam solo ácido, a composição física dos solos das amostras A favoreceram-nas a terem uma maior taxa de CTC, uma vez que as amostras A se mostraram solos mais argilosos e as amostras C solos mais arenosos. Zhang et al. (2013) demonstraram que a variação nos cátions de base trocáveis do solo foi analisada em plantações de *C. microphylla*, e os resultados indicaram um aumento significativo no cálcio trocável (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e na capacidade de troca catiônica (CTC).

Os micronutrientes estavam dispostos, também, da mesma maneira que os macronutrientes, seguindo sua maior porcentagem para todos os nutrientes nas amostras A, com exceção do ferro (Fe) que estava mais disposto nas amostras C. Segundo Kirkby (2023), os vegetais necessitam de oito micronutrientes desde a etapa da germinação, até o crescimento vegetativo e regenerativo. Bang et al. (2021) dizem que quando os micronutrientes são disponibilizados de maneira abaixo do que o realmente necessário pelas plantas, surgem problemas de diversas deficiências ocasionados pela taxa de nutrientes necessários não alcançada, uma vez que, cada um, tem o seu percentual necessário em cada espécie vegetal. Cada um dos micronutrientes listados na presente análise química de micronutrientes do solo, possui um papel fundamental durante todo o ciclo de desenvolvimento da planta. Segundo Begum e Fry (2022), já foram atribuídas inúmeras funções ao boro (B) ao longo dos anos, porém, atualmente, sabe-se que ele atua na formação complexos duradouros com substâncias que contêm grupos cis-hidroxila, como os grupos pectina presentes nas paredes celulares. O boro é crucial para a estabilização das paredes celulares primárias. O cobre (Cu) é um elemento que atua como cofator em enzimas e proteínas. Devido a sua atividade redox, influencia processos essenciais como fotossíntese, respiração, neutralização de espécies reativas de oxigênio e lignificação da parede celular em plantas superiores (Sheng et al., 2022; Lilay et al., 2024). Kroh e Pilon (2020) constataram que o ferro (Fe) possui uma importância fundamental na produção de clorofila e na condução de elétrons durante o processo de fotossíntese, resultando em desenvolvimento saudável das plantas. Lilay et al. (2024) e Schmidt e Husted (2019), compreendem o papel de cofator de enzimas para o manganês (Mn). Em vegetais, expressam sua capacidade de cofator de metaloenzimas dependentes de manganês, onde desempenham duas funções primordiais como catalisador ou ácido de Lewis, funções estas bem similares a outros nutrientes em plantas, como o cobre (Cu) e ferro (Fe), por exemplo. O zinco desempenha um papel vital como cofator em várias proteínas, onde uma entre suas principais atuações ocorre com resíduos aminoácidos como histidina, cisteína e glutamato/aspartato, predominantemente estabelecendo geometrias de coordenação tetraédricas. Uma ampla gama de enzimas, abrangendo todas as seis classes funcionais (oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases), apresenta locais catalíticos

contendo zinco, incluindo enzimas críticas como Cu/Zn-SODs, RNA polimerases, anidrase carbônica, álcool desidrogenase e fosfatase alcalina. Assim, pode-se observar algumas das funções versáteis desempenhadas pelo zinco ao longo do desenvolvimento vegetal (Maret e Li, 2009; Clemens, 2022; Lilay et al., 2024).

Os resultados do sequenciamento metagenômico proporcionaram uma análise detalhada das diferenças na composição taxonômica, estrutura e função dos genes presentes em dois tipos distintos de solo, além da possibilidade de recuperação de genomas a partir de metagenomas (MAGS). Em níveis gerais, observou-se uma semelhança marcante na composição filogenética em ambos os solos, com a predominância significativa dois filos Actinobacteria (41,41% para a cultura de cana-de-açúcar e 39,07% para alho) e Proteobacteria (37,30% para alho e 34,53% para cana-de-açúcar), respectivamente. Os resultados encontrados corroboram com dados na literatura, os quais também demonstram abundância dos filos Actinobacteria e Proteobacteria em solos de cultivo da cana-de-açúcar (Tayyab et al., 2021; Khan et al., 2022) e alho (Hussain et al., 2021; Ma et al., 2023). Ainda, foi possível verificar que gêneros como *Streptomyces*, *Bradyrhizobium*, *Nocardioides*, *Sphingomonas* e *Pseudomonas* estiveram presentes em ambos os solos, em alta abundância. Os gêneros detectados em abundância são conhecidos por suas capacidades de promoção do crescimento em plantas. *Streptomyces* é o gênero mais abundante dentro dos Actinomycetes, produzindo uma grande variedade de compostos bioativos, antibióticos e enzimas extracelulares (Olanrewaju e Babalola, 2019). *Bradyrhizobium*, por exemplo, é um grupo diversificado de bactérias que coloniza o compartimento endofítico radicular das plantas, utilizando carboidratos derivados de plantas em troca de garantir o nitrogênio através da fixação de N₂ (Schneijderberg et al., 2018). Características benéficas ao crescimento de plantas foi identificado em espécies do gênero *Nocardioides*, como a secreção de antibióticos, produção de sideróforos, e 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase (Wang, Li, Zhou e Zhang, 2023). O gênero *Sphingomonas*, também é um importante gênero notado pela sua capacidade de melhorar o crescimento de plantas em condições de estresses abióticos como salinidade, seca, e metais pesados (Asaf, Numan, Khan e Al-Harrasi, 2020). Por fim, o gênero *Pseudomonas* é um gênero bastante conhecido por suas capacidades de solubilizar fosfatos através de mecanismos de liberação de

ácidos orgânicos (Oteino et al., 2015). A presença desses gêneros em ambos os solos sugere um alto benefício às plantas, tanto em promoção do crescimento como alívio de estresses bióticos e abióticos.

Um outro ponto importante observado foi as diferenças na diversidade entre os dois solos de cultivo. Foi notável que os dois solos apresentaram uma estrutura microbiana distinta, possivelmente associada a diferenças no manejo, uma vez que a cana-de-açúcar provem de monocultura e o alho de uma rotação com feijão e na exsudação radicular da cultura. A agricultura intensiva mostra-se capaz de modificar a comunidade microbiana (Peng et al., 2023) enquanto práticas de manejo conservacionistas tendem a ter uma comunidade com uma maior diversidade (Zhu et al., 2018). Por outro lado, é conhecido que plantas com parentescos distintos tendem a ter comunidades microbianas associadas diferentes, devido a fatores como a produção diferenciada de exsudatos (Huang, Wang, Lv, Xu e Zhang, 2016; Yu et al., 2023), a fisiologia radicular (Wang, Wang e Dong, 2019) e o tipo de solo e a sua composição química (Wang et al., 2017). Essas diferenças na composição microbiana pode ser um bom aliado na prospecção de diferentes grupos de bactérias promotoras de crescimento.

A abundância diferencial obtida neste estudo também sugere diferenças significativas no número de táxons diferenciais. O solo de cultivo de cana-de-açúcar, por exemplo, demonstrou ter abundância superior em táxons como *Streptomyces*, *Bradyrhizobium* e *Mycobacterium*. A abundância diferencial desses gêneros pode sugerir diferenças no recrutamento radicular de cada cultura. Um estudo sugere que o cultivo de cana-de-açúcar possui um alto recrutamento de espécies do gênero *Streptomyces* (Rodrigues et al., 2018), trazendo então efeitos benéficos como a fixação de nitrogênio, mobilização de fósforo, tolerância ao estresse salino e produção de fitohormônios (Cardenas-Alegria et al., 2022). Além disso, um estudo recente mostrou que o gênero *Bradyrhizobium* pode estar associado às raízes da cana-de-açúcar, (Júnior, Matos, Freitas, Jesus e Rouws, 2019). Quando utilizado como inoculante, *Bradyrhizobium* spp. pode aumentar a biomassa microbiana e disponibilizar fósforo, impactando positivamente o cultivo da cana (Júnior et al., 2019). No solo de cultivo de alho diversos táxons foram diferenciais, destacando-se *Nocardioide*s, *Variovorax* e *Arthrobacter*. Embora estudos da comunidade microbiana em cultivos de alho ainda estejam em estágios iniciais, já se reconhece

a relevância desses grupos microbianos por suas funções benéficas em diversas outras culturas agrícolas. O gênero *Nocardioide*s, além do citado anteriormente, também é conhecido por sua alta capacidade de beneficiar a planta em situações de estresse hídrico, auxiliando em momentos de seca e altas salinidades (Meena et al., 2020; Rangseekaew, Barros-Rodríguez, Pathom-aree e Manzanera, 2021). Já o gênero *Variovorax* é descrito como uma espécie produtora de ácido indolacético (Sun et al., 2018), sideróforos, ACC deaminase (Liu, He, Sun e Ma, 2021), como também auxiliar na degradação de xenobióticos (Crombie et al., 2018). Em cultivo de *Panax ginseng*, o gênero *Arthrobacter* mostrou-se produzir ácido indolacético, como também, fixar nitrogênio, e solubilizar fósforo e potássio (Jiang et al., 2022). Um estudo com o mesmo gênero, mostrou-se eficiente na promoção do crescimento em cultivo de arroz (Chhetri et al., 2022).

Com relação às redes de co-ocorrência, foi possível observar diferenças marcantes entre os solos dos dois tipos de cultivo. O solo do cultivo de cana-de-açúcar mostrou-se consideravelmente menos complexo em relação aos solos de cultivo de alho. Essas diferenças refletem como diferentes cultivos podem apresentar diferenças expressivas na complexidade das interações microbianas. Um número reduzido de nós e arestas foi encontrado nos solos de cultivo de cana-de-açúcar, sugerindo que a comunidade microbiana está menos interconectada nesse ambiente. Diversos fatores podem influenciar esses resultados, como por exemplo o tipo de solo, o manejo utilizado como também a agricultura intensiva. No entanto, um estudo demonstrou que redes de co-ocorrência pouco complexas podem induzir uma comunidade vulnerável para patógenos, impactando a saúde da planta e a produtividade agrícola (Pu et al., 2022). Por outro lado, estudos de cultivares de soja resistente ao *Fusarium oxysporum* demonstram que comunidades mais diversas e complexas podem conferir maior resiliência e resistência a patógenos, aumentando então a saúde da planta (Carrión et al., 2019). Outro fator para a redução da complexidade das networks é a agricultura intensiva e a monocultura. Estudos demonstram que solos provenientes da agricultura intensiva podem apresentar complexidade das networks reduzidas (Banerjee et al., 2019), reduzindo a presença de espécies chaves e a quantidade de organismos benéficos (Shao et al., 2020).

O perfil dos genes funcionais nos solos estudados também variou conforme o cultivo analisado. Solos de cana-de-açúcar apresentaram uma alta variabilidade intra-amstral, ou seja, a abundância dos genes funcionais apresentaram muita variação entre as amostras do mesmo cultivo. Por outro lado, os solos de cultivo de alho apresentaram padrões mais estabelecidos. Funções associadas ao metabolismo de carboidratos, aminoácidos, proteínas, fósforo, vitaminas foram os mais abundantes nos solos estudados. As funções gerais para ambos os solos seguiram de forma quase que igualitária, com destaque para o metabolismo de fósforo, que se mostrou mais proeminente nas amostras de solo de alho. Genes com as mais variadas funções específicas, relacionadas à promoção do crescimento de plantas, foram anotados com certa predominância nos dois tipos de solo de cultivo.

Neste trabalho foi possível identificar com mais precisão gêneros presentes nos dois tipos de solo. Um total de 27 genomas de 8 filos foram recuperados com alta qualidade foram obtidos, conferindo uma completude maior que 70% e contaminação inferior a 5%. Alguns desses organismos foram mais abundantes, ou exclusivamente, encontrados em apenas um dos cultivos. Genomas do filo Dormibacterota e Acidobacterota foram encontrados exclusivamente no solo de cultivo de cana-de-açúcar enquanto genomas do filo Nitrospirota, Chloroflexota, e Gemmatimonadota foram encontrados majoritariamente no solo de cultivo de alho. O filo Acidobacterota já foi reportado como um organismo chave em solos de cultivo de cana-de-açúcar como também, em suas propriedades de mudanças nas propriedades do solo (Sadeghi, Moezzi, Gholami, Babaeinejad e Panahpour, 2021). Já o filo Dormibacterota, interessante, é um filo recém descrito associado a solos pobres nutricionalmente (Montgomery et al., 2021). O filo Nitrospirota é recém conhecido por suas características magnetotáticas e por participar ativamente do ciclo do enxofre (Umezawa, Kojima, Kato e Fukui, 2020). Já os filos Chloroflexota e Gemmatimonadota são conhecidos por estarem associados ao ciclo do carbono e nitrogênio (Petriglieri et al., 2023) e a produção primária respectivamente (DeBruyn, Nixon, Fawaz, Johnson e Radosevich, 2011). Ainda, obtivemos diversas funções de MAGs. Butarelli (2022), também investigou diversas funções a partir da montagem de MAGS montadas a partir de microrganismos metanotróficos. Através destas montagens, Butarelli (2022) observou a presença de duas espécies supostamente

novas, onde possuíam genes associados ao ciclo do nitrogênio, assim como as MAGs anotadas neste trabalho. Belgini (2020), também constatou a atividade de degradação e hidrocarbonetos em 33 MAGs recuperadas a partir de microcosmos de reservatório de petróleo. Por fim, Lemos (2019) descobriu traços funcionais associados a nitrificação, em Archaea, em seu trabalho, através de MAGs reconstituídas de amostras de solo da Amazônia.

Em cada meio de cultivo utilizado, foram obtidas porcentagens diferentes de diversos tipos de morfologias de microrganismos, como demonstrado nos resultados deste trabalho. Este número significativo de diversidade morfológica entre as colônias de isolados obtidas pode ser resultado da atividade da comunidade microbiana, que, através da liberação de exsudatos, aminoácidos, vitaminas, ácidos orgânicos, entre outros, fazem com que a ação metabólica dos microrganismos seja maior, comparada a ação em solos sem estas influências (Bandick e Dick, 1999; Manhães e Francelino, 2013; Ramos et al., 2018). Ramos e colaboradores (2018) atestaram em seu trabalho que 63,2% dos isolados foram classificados como Gram-positivos e 36,8% apresentaram perfil de coloração Gram-negativa. É importante salientar que o número de grupos de bactérias segundo Silva e Nahas (2012); Viana et al., (2011); Ramos et al., (2012) e Ramos et al., (2018), podem ser afetados devido a tipagem do solo e vegetais presentes, bem como condições climáticas e manejo. Amarante et al., (2010), ao analisar amostras de solo da Amazônia de diferentes profundidades, constatou que a maioria dos isolados presentes eram Gram-negativos, no entanto, em solo da caatinga, observou o oposto, sendo classificados majoritariamente com o perfil de isolados Gram-positivos. Sendo assim, é observado que o perfil morfológico de comunidades microbianas sofre profunda influência dos fatores bióticos e abióticos nos quais estão inseridas.

A solubilização de fosfato foi constatada por todos os isolados utilizados durante o teste bioquímico de solubilização de fosfato, sendo observados diferentes graus de solubilização de acordo com o tamanho do halo, conforme a Tabela 9. Segundo Bashan e Bashan (2004) e Guimarães et al., (2023) o principal indicativo do efeito de solubilização de fosfato que resulta no crescimento e desenvolvimento de plantas é o aumento de biomassa e de teor de P em plantas. Yadav et al., (2016)

e Guimarães et al., (2023), falam que o efeito da promoção do crescimento de plantas realizadas por rizobactérias pode ser mediado por mecanismos diretos como a solubilização de fosfato e esse fato se dá devido à sobrevivência dos diferentes microrganismos do solo, principalmente aqueles com capacidade de solubilizar fosfato inorgânico insolúvel através da atividade da fosfatase. Por outro lado, algumas das bactérias não foram capazes de produzir ácido indolacético (AIA). Ramos et al., (2021) obtiveram diversos isolados com capacidade de produção de AIA, onde, 11 destes, foram os mais promissores, isolados de rizosfera de oliveiras (*Olea europaea* L.). Dos Santos et al., (2024) também conseguiram em seus resultados, 18 isolados produtores de AIA, isolados através da orquídea cimbídio, onde, de todos estes isolados, 8 conseguiram produzir o fitormônio na presença e ausência de triptofano. De Souza et al., (2021) testaram diversos isolados de solos ácidos provenientes da Amazônia Central, no qual, 52% dos isolados testaram positivamente para a produção de AIA. Sendo assim, considerado como um dos hormônios mais importantes para o crescimento vegetal em processos e fases de alongamento celular, divisão celular, formação de raízes adventícias e resposta a estímulos ambientais, é extremamente importante a realização do teste de produção deste fitormônio em prospecções de isolados de solo com capacidades conferidas de promoção de crescimento de plantas.

Os resultados obtidos indicam que as bactérias isoladas do solo de alho possuem potencial na promoção do crescimento vegetal, uma vez que seu efeito foi estatisticamente semelhante ao do controle positivo, uma bactéria já estabelecida por sua eficácia nesse processo. Embora nenhuma das isoladas tenha superado o controle positivo, sua capacidade de induzir crescimento dentro da mesma faixa sugere que podem ser exploradas como alternativas viáveis em práticas agrícolas sustentáveis. Estudos adicionais são necessários para avaliar possíveis interações sinérgicas entre essas bactérias e otimizar suas condições de aplicação, visando aprimorar seu desempenho e explorar seu potencial em diferentes culturas e condições de solo. Araujo e Guerreiro (2010), conseguiram excelentes resultados com seis isolados de *Bacillus* que promoveram o crescimento de milho cultivado em solo autoclavado e natural. De Alcantara et al., (2021), concluíram em sua pesquisa que os inoculantes que eles avaliaram incrementaram a altura do milho, porém não aumentaram proporcionalmente a sua produtividade. De Carvalho e Reis (2023), ao

inocular a soja com *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* e *Azospirillum brasilense*, não observaram diferenças significativas quanto à altura da parte aérea, massa fresca aérea e de raiz, e massa seca da parte aérea e raiz, corroborando com os resultados dos parâmetros avaliados no presente trabalho, ainda que sejam isolados de gêneros e espécies diferentes. Ao inocular *A. brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* em alho, (Souza, 2022) notou que parâmetros avaliados, tais como diâmetro de bulbo e massa de plantas frescas no período de pré-cura e diâmetro de bulbo, massa de bulbos, massa de parte aérea e produtividade em pós-cura não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos, indo de encontro com os resultados encontrados nesta pesquisa, onde, em geral, não houve diferenças significativas em relação ao crescimento de alho em nenhum parâmetro avaliado.

O gênero *Paenibacillus* sp. foi classificado pela primeira vez em 1993, por um trio de pesquisadores. Foi proposto um novo surgimento de gênero, pois, o mesmo, possuía algumas características que o distinguiam dos demais gêneros já classificados de *Bacillus*. Dentre suas características gerais, o gênero possui espécies com bactérias em formato de bastonetes Gram-positivos, mas que podem apresentar-se em ocorrência de Gram-variável. Produzem esporos elípticos ou ovais, podendo ser localizados centralmente ou subterminalmente. No que tange a motilidade, diversas das espécies já classificadas no gênero são móveis, geralmente por flagelos peritríquios. São aeróbios ou anaeróbios facultativos. Possuem a capacidade de metabolização de uma ampla gama de substratos orgânicos como proteases e celulasas. Os esporos produzidos são altamente resistentes a condições extremas como calor e desidratação. São encontrados predominantemente em solo, rizosfera e ambientes aquáticos. É um gênero intimamente ligado a promoção de crescimento de plantas, onde, algumas espécies possuem até mesmo interesse na fixação biológica de nitrogênio e controle biológico de patógenos (Ash et al., 1993).

Gkikas e colaboradores (2021), testaram a cepa *Paenibacillus alvei* K165, contra o fungo traqueomicótico *Phaeomoniella chlamydospora*, causador da esca da videira ou doença da madeira da videira. Trata-se de uma das principais doenças que afetam vinhedos em todo o mundo e que não pode ser controlada através de

produtos químicos. Em seus experimentos, concluíram que a utilização da cepa contribuiu com a redução de 90% do DNA endofítico do fungo em comparação com os controles, possuindo potencial constatado de agente de biocontrole de esca de videira em videiras. Gkizi e colaboradores (2021) relataram em seu trabalho que, além do agente de biocontrole *Paenibacillus alvei* K165 demonstrar proteger plantas de *Arabidopsis thaliana* contra *Verticillium dahliae*, a estirpe ainda conferiu resistência imunológica herdada a *V. dahliae*, através de uma triagem de mutantes de histona acetiltransferases, ensaios ChIP e experimentos transcriptômicos. Mohammad e colaboradores (2023), constataram atributos positivos nos parâmetros de crescimento de *Melon Manis Terengganu* (MMT), tais como, altura das plantas, tamanho das folhas, conteúdo de clorofila, peso e comprimento da raiz, macronutrientes e micronutrientes, comparados com o controle.

Segundo Rangel e colaboradores (2016), as espécies do gênero *Pseudomonas* sp. são bacilos gram-negativos geralmente dispostos em pares. Não formam esporos, são aeróbios e não fermentam carboidratos, utilizando-os exclusivamente pela via oxidativa como fonte de energia. Essas bactérias têm ampla distribuição em diversos ambientes, incluindo solo, água, superfícies de plantas e animais. Destacam-se por sua capacidade de metabolizar uma grande diversidade de compostos orgânicos como fonte de energia, além de produzir exoenzimas, toxinas e metabólitos secundários. Na literatura atual, diversos trabalhos sobre o gênero constaram que possuem capacidade de promover o crescimento de plantas e atuar no controle biológico de patógenos. A espécie *Pseudomonas fluorescens* em questão, é reconhecida justamente por atuar na promoção do crescimento de plantas.

Terminando, Sahu e colaboradores (2018), enfatizam que uma grande variedade de bactérias do gênero possui a menção de agentes de controle biológico e promoção de crescimento de plantas por causa de uma junção de mecanismos considerados diretos e indiretos que colaboram com o desenvolvimento vegetal. Entre os mecanismos diretos, destacam-se a produção de uma ampla gama de fitohormônios, a solubilização de fosfatos e a fixação de nitrogênio atmosférico. No que tange o controle biológico, *P. fluorescens* produz metabólitos secundários antimicrobianos, além de lipopeptídeos que inibem o crescimento de fitopatógenos.

Ainda, a bactéria provoca resistência sistêmica em plantas, acarretando defesas naturais. A combinação desses mecanismos faz de *P. fluorescens* uma ferramenta biotecnológica importante para a promoção de sistemas agrícolas sustentáveis.

7. CONCLUSÃO

Os macronutrientes e micronutrientes estiveram presentes em maiores concentrações nos solos com alho. Além disso, as redes de co-ocorrência microbiana foram mais robustas nestas amostras, revelando um número significativamente maior de conexões entre os táxons presentes. A análise funcional do microbioma mostrou que o número de genes funcionais foi mais expressivo nas amostras de solo de alho. Considerando que a qualidade do solo é determinada pelas suas características físicas, químicas e microbiológicas, os resultados deste estudo contribuem para uma compreensão mais profunda dos impactos adversos da monocultura na saúde do solo. Isto se deve especialmente ao papel essencial dos microrganismos em processos como decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e fixação de nutrientes. Sendo assim, o presente estudo contribui com o conhecimento metagenômico para os esforços contínuos para decifrar e amenizar os impactos causados pelo uso extensivo da monocultura de cana-de-açúcar, que causa prejuízos como perda da biodiversidade microbiana, vulnerabilidade a pragas e doenças, e alterações físicas e químicas do solo. Os resultados dos testes de plantação em casa de vegetação sugerem que as bactérias isoladas do solo de alho possuem potencial como promotoras de crescimento vegetal, pois seu efeito foi estatisticamente semelhante ao do controle positivo. Embora nenhuma tenha superado o controle, seu desempenho indica viabilidade para futuras aplicações agrícolas, exigindo estudos adicionais para otimização e uso em diferentes condições. A caracterização parcial do gene *16S rRNA* desses isolados nos trouxeram boas oportunidades de explorações futuras quanto sua aplicação na agricultura, visto a notoriedade na literatura por sua ampla ligação com a promoção do crescimento de plantas e agente biológico de controle de patógenos de plantas.

8. REFERÊNCIAS

Almaghrabi, O. A., Abdelmoneim, T. S., Albishri, H. M., e Moussa, T. A. (2014). Enhancement of maize growth using some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under laboratory conditions. **Life Scienc Journal**, 11(11), 764-772.

Amarante, C., de Lourdes Ruivo, M., de Lourdes Oliveira, M., Leoncio, R., e Moura, Q. (2010). Diversidade microbiana em solos de Terra Preta Arqueológica. **Enciclopédia biosfera**, 6(11).

Aramaki T., Blanc-Mathieu R., Endo H., Ohkubo K., Kanehisa M., Goto S., Ogata H. KofamKOALA: KEGG ortholog assignment based on profile HMM and adaptive score threshold. **Bioinformatics**. 2019 Nov 19. pii: btz859. DOI: 10.1093/bioinformatics/btz859.

Araujo, F. F. D., e Guerreiro, R. T. (2010). Bioprospecção de isolados de *Bacillus* promotores de crescimento de milho cultivado em solo autoclavado e natural. **Ciência e Agrotecnologia**, 34, 837-844.

Argôlo-Filho, R. C., e Loguercio, L. L. (2013). *Bacillus thuringiensis* Is an Environmental Pathogen and Host-Specificity Has Developed as an Adaptation to Human-Generated Ecological Niches. **Insects**, 5(1), 62–91. <https://doi.org/10.3390/insects5010062>

Ash, C., Priest, F. G., e Collins, M. D. (1993). Molecular identification of *rRNA* group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test: proposal for the creation of a new genus *Paenibacillus*. **Antonie van leeuwenhoek**, 64, 253-260.

Avontuur, J. R., et. al., (2020). Genome-informed *Bradyrhizobium* taxonomy: where to from here? **Systematic and Applied Microbiology**, 42(2019), 427–439. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.03.006>

Azizoglu, U. (2019). *Bacillus thuringiensis* as a Biofertilizer and Biostimulator : a Mini - Review of the Little - Known Plant Growth - Promoting Properties of *Bt*. **Current Microbiology**, 76(11), 1379–1385. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01705-9>
Barnes, J., Anderson, L. A., e Phillipson, J. D. (2007). **Herbal medicines** (No. 3rd Edition). pharmaceutical press.

Bandick, A. K., e Dick, R. P. (1999). Field management effects on soil enzyme activities. **Soil biology and biochemistry**, 31(11), 1471-1479.

Bashan, Y., Holguin, G., e de-Bashan, L. E. (2004). *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian journal of microbiology**, 50(8), 521–577. <https://doi.org/10.1139/w04-035>

Bastian, M., Heymann, S., e Jacomy, M. (2009, March). Gephi: an open source software for exploring and manipulating networks. **In Proceedings of the international AAI conference on web and social media** (Vol. 3, No. 1, pp. 361-362). DOI: <https://doi.org/10.1609/icwsm.v3i1.13937>

Asaf, S., Numan, M., Khan, A. L., e Al-Harrasi, A. (2020). *Sphingomonas*: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth. **Critical Reviews in Biotechnology**, 40(2), 138-152. DOI: 10.1080/07388551.2019.1709793

Banerjee, S., Walder, F., Büchi, L., Meyer, M., Held, A., Gattinger, A., ... e Heijden, M. G. A. v. d. (2019). Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the abundance of keystone taxa in roots. **The ISME Journal**, 13(7), 1722-1736. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0383-2>

Batiha, G. E., Beshbishy, A. M., e Wasef, L. G. (2020). Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.): A Review. *Nutrients*, 12(3), 1–21. doi: 10.3390/nu12030872. PMID: 32213941; PMCID: PMC7146530. DOI:10.3390/nu12030872

Begum, R. A., e Fry, S. C. (2022). Boron bridging of rhamnogalacturonan-II in *Rosa* and *Arabidopsis* cell cultures occurs mainly in the endo-membrane system and continues at a reduced rate after secretion. **Annals of Botany**, 130(5), 703-715. DOI: <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1093/aob/mcac119>

Belgini, D. R. B. (2020). **Influência da salinidade e temperatura sobre a dinâmica estrutural e funcional do microbioma de reservatórios de petróleo em microcosmos** (Doctoral dissertation, [sn]).

Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J., Sayers E.W. (2011). National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20894, USA. **Nucleic Acids Res.** Jan;39 (Database issue).

Bhattacharyya, S. S., Ros, G. H., Furtak, K., Iqbal, H. M., e Parra-Saldívar, R. (2022). Soil carbon sequestration—An interplay between soil microbial community and soil organic matter dynamics. **Science of The Total Environment**, 815, 152928. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.152928>

Blake, C., Christensen, M. N., e Kov, T. (2021). Molecular Aspects of Plant Growth Promotion and Protection by *Bacillus subtilis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 34(1), 15–25. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR>

Blum, S. C., Lehmann, J., Solomon, D., Caires, E. F., e Alleoni, L. R. F. (2013). Sulfur forms in organic substrates affecting S mineralization in soil. **Geoderma**, 200, 156-164. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.02.003>

Brady, N.C.; Weil, R.R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 790p.

Brady, N. C., Weil, R. R., e Weil, R. R. (2008). **The nature and properties of soils** (Vol. 13, pp. 662-710). Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.

Bric, J. M., Bostock, R. M., e Silverstone, S. E. (1991). Rapid in situ assay for indoleacetic Acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. **Applied and environmental microbiology**, 57(2), 535–538.

Buchfink, B., Xie, C., e Huson, D. H. (2015). Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. **Nature methods**, 12(1), 59-60. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3176>

Bunt, J.S.; Rovira, A.D. Microbiological studies of some subantartic soils. **Journal of the Soil Science**, Oxford, v. 6, n. 1, p. 119-128, 1955. Cassán, F. D., e Garcia de Salamone, I. (2008). *Azospirillum sp.*: **cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología.

Butarelli, A. C. D. A. (2022). **Perfil taxonômico e funcional de microrganismos metanotróficos em regiões de exsudação de metano do Atlântico Sudoeste** (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Carrión, V. J., Perez-Jaramillo, J., Cordovez, V., Tracanna, V., De Hollander, M., Ruiz-Buck, D., ... e Raaijmakers, J. M. (2019). Pathogen-induced activation of disease-suppressive functions in the endophytic root microbiome. **Science**, 366(6465), 606-612. DOI: [10.1126/science.aaw9285](https://doi.org/10.1126/science.aaw9285).

Castro, J. (1965). **Geopolítica da Fome: ensaio sobre os problemas de alimentação e de população**. 7a. edição revista e aumentada. Prefácios de Pearl S. Buck, Lord John Boyd Orr e Max Sorre. São Paulo: Editora Brasiliense.

Chaudhary, P., Khati, P., Chaudhary, A., Maithani, D., Kumar, G., e Sharma, A. (2021). Cultivable and metagenomic approach to study the combined impact of nanogypsum and *Pseudomonas taiwanensis* on maize plant health and its rhizospheric microbiome. **PloS one**, 16(4), e0250574. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250574>

Clemens, S. (2022). The cell biology of zinc. **Journal of Experimental Botany**, 73(6), 1688-1698. DOI: <https://doi.org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1093/jxb/erab481>

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Conab realiza pesquisa de campo sobre cana-de-açúcar**. July, 2022. Available at: <https://www.conab.gov.br/últimas-noticias/4688-conab-realiza-pesquisa-de-campo-sobre-cana-de-acucar#:~:text=Entre%20os%20maiores%20estados%20produtores,%2C03%20milh%C3%5es%20de%20toneladas>). Accessed on: November 18, 2023.

Cardenas-Alegría, O. V., Dantas, C. W. D., Lobato, E. M. S. G., Silva, S. P. D., Moraes, C. d. S., Cruz, A. C. R., ... e Carneiro, A. R. (2022). Influence of soil management for soybean production under microbial diversity in amazon soils. **Frontiers in Environmental Science**, 10.

Centeno, L. N., Guevara, M. D. F., Cecconello, S. T., de Sousa, R. O., e Timm, L. C. (2017). Textura do solo: conceitos e aplicações em solos arenosos. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, 4(1), 31-37. DOI: <https://doi.org/10.15210/rbes.v4i1.11576>

Chaumeil, P. A., Mussig, A. J., Hugenholtz, P., e Parks, D. H. (2020). **GTDB-Tk: a toolkit to classify genomes with the Genome Taxonomy Database**. DOI: 10.1093/bioinformática/btz848

Chen, G. L., Zheng, F. J., Lin, B., Lao, S. B., He, J., Huang, Z., ... e Verma, K. K. (2020). Phenolic and volatile compounds in the production of sugarcane vinegar. **ACS omega**, 5(47), 30587-30595. DOI: 10.1021/acsomega.0c04524

Chhetri, G., Kim, I., Kang, M., So, Y., Kim, J., e Seo, T. (2022). An isolated *Arthrobacter* sp. enhances rice (*Oryza sativa* L.) plant growth. **Microorganisms**, 10(6), 1187. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061187>

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Conab realiza pesquisa de campo sobre cana-de-açúcar.** July, 2022. Available at: [https://www.conab.gov.br/últimas-noticias/4688-conab-realiza-pesquisa-de-campo-sobre-cana-](https://www.conab.gov.br/últimas-noticias/4688-conab-realiza-pesquisa-de-campo-sobre-cana-de-acucar#:~:text=Entre%20os%20maiores%20estados%20produtores,%2C03%20milh%C3%5es%20de%20toneladas)

[de acucar#:~:text=Entre%20os%20maiores%20estados%20produtores,%2C03%20milh%C3%5es%20de%20toneladas](https://www.conab.gov.br/últimas-noticias/4688-conab-realiza-pesquisa-de-campo-sobre-cana-de-acucar#:~:text=Entre%20os%20maiores%20estados%20produtores,%2C03%20milh%C3%5es%20de%20toneladas)). Accessed on: November 18, 2023.

Crombie, A. T., Larke-Mejía, N. L., Emery, H. S., Dawson, R. A., Pratscher, J., Murphy, G. P., ... e Murrell, J. C. (2018). Poplar phyllosphere harbors disparate isoprene-degrading bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 115(51), 13081-13086. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1812668115>

de Alcantara, R. M. C. M., de Sousa, T. S., Peres, T. D. L., Oliveira, A. D. S., da Silva, E. A., e Costa, P. M. (2021). **Parâmetros morfológicos e produtivos da cultura do milho inoculado com bactérias promotoras de crescimento vegetal em Teresina, PI.**

de Carvalho, B. S., e Reis, J. M. R. (2023). Inoculação e coinoculação de bactérias promotoras de crescimento na cultura da soja. **Anais do COMEIA**, 14, 70-70.

De Boer, W., e Kowalchuk, G. A. (2001). Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms. **Soil Biology and Biochemistry**, 33(7-8), 853-866. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00247-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00247-9)

DeBruyn, J. M., Nixon, L. T., Fawaz, M. N., Johnson, A. M., e Radosevich, M. (2011). Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of Gemmatimonadetes in soil. **Applied and environmental microbiology**, 77(17), 6295-6300. DOI: 10.1128/AEM.05005-11

de Souza, L. C. C., dos Santos Hara, F. A., Vendruscolo, J., Inácio, A. C. F., e Silva, M. S. (2021). Caracterização morfofisiológica de isolados de rizóbios provenientes de solos ácidos da Amazônia Central. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, 12(4), 21-34.

Donagema, G., Campos, D. D., e Calderano, S. T. (2011). WG; VIANA, JHM (Org.). **Manual de métodos de análise de solos.**

Dong, W., e Song, Y. (2020). The Significance of Flavonoids in the Process of Biological Nitrogen Fixation. **Interntional Journal of Molecular Sciences**, 21(16)

dos Santos, P. C. D. O., Landgraf, P. R. C., e Florentino, L. A. (2024). Avaliação in vitro de bactérias promotoras de crescimento vegetal isoladas da orquídea cimbídio. **Ornamental Horticulture**, 30, 1-6.

Du, E., Terrer, C., Pellegrini, A. F., Ahlström, A., van Lissa, C. J., Zhao, X., ... e Jackson, R. B. (2020). Global patterns of terrestrial nitrogen and phosphorus limitation. **Nature Geoscience**, 13(3), 221-226. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0530-4>

Duque, A. P., et. al., (2018). Propriedades cardioprotetoras do alho (*Allium sativum*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 20(2018), 63–74.

Egan, A., e Kakouli-Duarte, T. (2022). Observations on the interaction between plant growth-promoting bacteria and the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **MicrobiologyOpen**, 11, e1319. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1319>

Elías, J. M., Guerrero-Molina, M. F., Martínez-Zamora, M. G., Díaz-Ricci, J. C., e Pedraza, R. O. (2018). Role of ethylene and related gene expression in the interaction between strawberry plants and the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. **Plant biology (Stuttgart, Germany)**, 20(3), 490–496. <https://doi.org/10.1111/plb.12697>

Erisman, J. W., Galloway, J. N., Seitzinger, S., Bleeker, A., Dise, N. B., Petrescu, A. M. R., ... Erisman, J. W. (2013). Consequences of human modification of the global nitrogen cycle. **Phil Trans R Soc B** 368: 20130116. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0116>

Faostat. **food and agriculture organization corporate statistical database**. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/>. Accessed on: November 20, 2023.

Feechan, A., Kwon, E., Yun, B. W., Wang, Y., Pallas, J. A., e Loake, G. J. (2005). A central role for S-nitrosothiols in plant disease resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 102(22), 8054-8059. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0501456102>

Feng, Y., Cui, X., He, S., Dong, G., Chen, M., Wang, J., e Lin, X. (2013). The role of metal nanoparticles in influencing arbuscular mycorrhizal fungi effects on plant growth. **Environmental science e technology**, 47(16), 9496-9504.

Fibach-Paldi, S., Burdman, S., e Okon, Y. (2012). Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. **FEMS microbiology letters**, 326(2), 99–108.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02407.x>

Fierer, N., e Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 103(3), 626-631. DOI: <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1073/pnas.0507535103>

Friedman, J., e Alm, E. J. (2012). Inferring correlation networks from genomic survey data. Karaoz, U., e Brodie, E. L. (2022). microTrait: a toolset for a trait-based representation of microbial genomes. **Frontiers in Bioinformatics**, 2, 918853.

Fuentes-Ramirez, L., e Caballero-Mellado, J. (2005). **PGPR: biocontrol and biofertilization.** Siddiqui (ed.), 143-172.

Galloway, J. N., Dentener, F. J., Capone, D. G., Boyer, E. W., Howarth, R. W., Seitzinger, S. P., ... Vo, C. J. (2004). Nitrogen cycles : past , present , and future. **Biogeochemistry**. 70: 153–226.

Gao, J., Lv, J., Wu, H., Dai, Y., e Nasir, M. (2018). Impacts of wheat straw addition on dissolved organic matter characteristics in cadmium-contaminated soils: insights from fluorescence spectroscopy and environmental implications. **Chemosphere**, 193, 1027-1035. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.112>

Gkikas, F. I., Tako, A., Gkizi, D., Lagogianni, C., Markakis, E. A., e Tjamos, S. E. (2021). *Paenibacillus alvei* K165 and *Fusarium oxysporum* F2: Potential biocontrol agents against *Phaeomoniella chlamydospora* in grapevines. **Plants**, 10(2), 207.

Gkizi, D., González Gil, A., Pardal, A. J., Piquerez, S. J., Sergaki, C., Ntoukakis, V., e Tjamos, S. E. (2021). The bacterial biocontrol agent *Paenibacillus alvei* K165 confers inherited resistance to *Verticillium dahliae*. **Journal of experimental botany**, 72(12), 4565-4576.

Glick BR. **Plant Growth-Promoting Bacteria: mechanisms and applications.** Hindawi Publishing Corporation, Scientifica. 2012. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>

Gruber, N., e Galloway, J. N. (2008). An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. **Nature**, 451(January), 10–13. <https://doi.org/10.1038/nature06592>

Guimarães, V. F., Klein, J., e Klein, D. K. (2023). Promoção de crescimento e solubilização de fosfato na cultura da soja: coinoculação de sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Pseudomonas fluorescens*. **DELOS: Desarrollo Local Sostenible**, 16(46), 2164-2199.

Gulati, A., Vyas, P., Rahi, P., e Kasana, R. C. (2009). Plant growth-promoting and rhizosphere-competent *Acinetobacter rhizosphaerae* strain BIHB 723 from the cold deserts of the Himalayas. **Current microbiology**, 58(4), 371-377.

Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., e Tesler, G. (2013). QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. **Bioinformatics**, 29(8), 1072-1075. DOI: 10.1093/bioinformática/btt086

Howarth, R. W., Cowling, E. B., e Cosby, B. J. (2003). The Nitrogen Cascade. **BioScience**, 53(4), 341–356.

Huang, H., Wang, S., Lv, J., Xu, X., e Zhang, S. (2016). Influences of artificial root exudate components on the behaviors of bde-28 and bde-47 in soils: desorption, availability, and biodegradation. **Environmental Science and Pollution Research**, 23(8), 7702-7711. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-6025-y>

Haber, L. L. et al., Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. **Horticultura em Moçambique: características, tecnologias de produção e de pós-colheita**. 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1029218/horticultura-em-mocambique-características-tecnologias-de-producao-e-de-pos-colheita>. Acesso em: 12 de janeiro de 2023.

Hartman, A.; baldani, J. I. The genus *Azospirillum*. In: DWORKIN, M.; FLAKNOW, S.; ROSEMBERG, E.; SCHLEIFER, K-H.; STACKERBRANDT, E.; (Ed.). **The Prokaryotes**. 3. ed. New York : Springer, v. 5.; p. 115-140.

He, Y., Hou, L., Wang, H., Hu, K., e McConkey, B. (2014). A modelling approach to evaluate the long-term effect of soil texture on spring wheat productivity under a rain-fed condition. **Scientific reports**, 4(1), 5736. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep05736>

Hou, S. L., Yin, J. X., Sistla, S., Yang, J. J., Sun, Y., Li, Y. Y., ... e Han, X. G. (2017). Long-term mowing did not alter the impacts of nitrogen deposition on litter quality in a temperate steppe. **Ecological Engineering**, 102, 404-410. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.02.057>

Hucker G. J. (1921). A New Modification and Application of the Gram Stain. **Journal of bacteriology**, 6(4), 395–397. <https://doi.org/10.1128/jb.6.4.395-397.1921>
Hungria, M., Campo, RJ, Souza, EM, e Pedrosa, FO (2010). Inoculação com cepas selecionadas de *Azospirillum brasilense* e *A. lipoferum* melhora a produtividade de milho e trigo no Brasil. **Planta e solo**, 331 (1), 413-425.

Hussain, J., Wei, X., Xue-Gang, L., Shah, S. R. U., Aslam, M., Ahmed, I., ... e Azam, T. (2021). Garlic (*Allium sativum*) based interplanting alters the heavy metals absorption and bacterial diversity in neighboring plants. **Scientific Reports**, 11(1), 5833. DOI: 10.1038/s41598-021-85269-4

Id, A. B., Endres, M. G., Sergeev, R. A., Jonchhe, A., Macaluso, M., Narayan, R., ... Lakhani, K. R. (2019). Advancing computational biology and bioinformatics research through open innovation competitions. **PLoS ONE**, 14(9), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222165>

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola** – Estatística de Produção Agrícola. Outubro, 2024. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/41594-em-setembro-ibge-preve-safra-de-295-1-milhoes-de-toneladas-para-2024#:~:text=Em%20setembro%2C%20a%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de,1%2C2%20milh%C3%A3o%20de%20toneladas.>

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Garlic production**. December, 2021. Available at: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/alho/br>. Accessed on: November 22, 2023.

Inui, R. N.; Kishi, Takeshi, L.; Picchi, S. C.; Barbosa, J. C., Lemos, M. T. O.; Marcondes, Jackson. Lemos, Eliana. G. M. Phosphorus solubilizing and iaa production activities in plant growth promoting rhizobacteria from Brazilian soils under sugarcane cultivation. ARPN. **Journal of Engineering and Applied Sciences**. VOL. 7, NO. 11, NOVEMBER 2012.

Jiang, Y., Song, Y., Jiang, C., Li, X., Liu, T., Wang, J., ... e Gao, J. (2022). Identification and characterization of *Arthrobacter nicotinovorans* JI39, a novel plant growth-promoting rhizobacteria strain from *Panax ginseng*. **Frontiers in Plant Science**, 13, 873621. DOI: Volume 13 - 2022 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.873621>

J.A.M. de Souza, L.M. Carrareto Alves, A.d.M. Varani, E.G.d.M. Lemos. The family Bradyrhizobiaceae. E. Rosenberg, E. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, F. Thompson (Eds.), **The Prokaryotes**, Springer, Berlin/ Heidelberg (2014), pp. 135-150.

Janssen, R., e Rutz, D. D. (2011). Sustainability of biofuels in Latin America : Risks and opportunities. **Energy Policy**, 39(10), 5717–5725. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2011.01.047>

Júnior, I. d. A. M., Matos, G. F. d., Freitas, K. M. d., Jesus, E. d. C., e Rouws, L. F. M. (2019). Occurrence of diverse *bradyrhizobium spp.* in roots and rhizospheres of two commercial brazilian sugarcane cultivars. **Brazilian Journal of Microbiology**, 50(3), 759-767. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00090-6>

Khan, M. A., Ding, X., Khan, S., Brusseau, M. L., Khan, A., e Nawab, J. (2018). The influence of various organic amendments on the bioavailability and plant uptake of cadmium present in mine-degraded soil. **Science of the total environment**, 636, 810-817. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.299>

Khan, A., Jiang, H., Bu, J., Adnan, M., Gillani, S. W., Hussain, M. A., e Zhang, M. (2022). Untangling the Rhizosphere bacterial community composition and response of soil physiochemical properties to different nitrogen applications in sugarcane field. **Frontiers in Microbiology**, 13, 856078. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.856078>

Kirkby, E. A. (2023). Introduction, definition, and classification of nutrients. In: Z Rengel, I Cakmak, PJ White, eds. **Marschner's mineral nutrition of plants**, 4th ed. London, UK: Academic

Kroh, G. E., e Pilon, M. (2020). Regulation of iron homeostasis and use in chloroplasts. **International Journal of Molecular Sciences**, 21(9), 3395. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21093395>

Kuster, E.; Williams, S.T. Selection of media for isolation of Streptomycetes. **Nature**, London, v. 202, p. 607-617, 1997.

Lally, R. D., Galbally, P., Moreira, A. S., Spink, J., Ryan, D., Germaine, K. J., e Dowling, D. N. (2017). Application of endophytic *Pseudomonas fluorescens* and a bacterial consortium to *Brassica napus* can increase plant height and biomass under greenhouse and field conditions. **Frontiers in plant science**, 8, 2193.

Lemos, L. N. (2019). **Integrative and in silico modeling of multi-omics data of Archaea and Bacteria phyla in Amazon soils.**

Li, D., Liu, C. M., Luo, R., Sadakane, K., e Lam, T. W. (2015). MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. **Bioinformatics**, 31(10), 1674-1676. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv033>

(a) Li, H., e Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. **Bioinformatics**, 25(14), 1754-1760.

(b) Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., e Durbin, R.; 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. (2009). The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. **Bioinformatics**, 25(16), 2078-2079. DOI:10.1093/bioinformatics/btp352

List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature - LPSN. **Genus *Pseudomonas***. Disponível em: <https://lpsn.dsmz.de/genus/pseudomonas>. Acesso em: 17 de janeiro de 2023.

List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature - LPSN. **Genus *Azospirillum***. Disponível em: <https://lpsn.dsmz.de/search?word=azospirillum>. Acesso em: 17 de janeiro de 2023.

Lilay, G. H., Thiébaud, N., du Mee, D., Assunção, A. G., Schjoerring, J. K., Husted, S., e Persson, D. P. (2024). Linking the key physiological functions of essential micronutrients to their deficiency symptoms in plants. **New Phytologist**, 242(3), 881-902.

Liu, C., Cui, Y., Li, X., e Yao, M. (2021). microeco: an R package for data mining in microbial community ecology. **FEMS microbiology ecology**, 97(2), fiae255. DOI: 10.1093/femsec/fiae255

Liu, J., He, X., Sun, J., e Ma, Y. (2021). A degeneration gradient of poplar trees contributes to the taxonomic, functional, and resistome diversity of bacterial communities in rhizosphere soils. **International Journal of Molecular Sciences**, 22(7), 3438. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22073438>

Liu, Y., Zeng, H., Ding, S., Hu, Z., Tie, B., e Luo, S. (2025). A new insight into the straw decomposition associated with minerals: Promoting straw humification and Cd immobilization. **Journal of Environmental Sciences**, 148, 553-566. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.jes.2024.01.052>

Long, S., Xie, W., Zhao, W., Liu, D., Wang, P., e Zhao, L. (2024). Effects of acid and aluminum stress on seed germination and physiological characteristics of seedling growth in *Sophora davidii*. **Plant Signaling e Behavior**, 19(1), 2328891. DOI: <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1080/15592324.2024.2328891>

Ma, Y., Shen, S., Wan, C., Wang, S., Yang, F., Zhang, K., e Gao, W. (2023). Organic fertilizer substitution over six years improves the productivity of garlic, bacterial diversity, and microbial communities network complexity. **Applied Soil Ecology**, 182, 104718. DOI: 10.1016/j.apsoil.2022.104718

Mattila, T. J., e Rajala, J. (2022). Estimating cation exchange capacity from agronomic soil tests: Comparing Mehlich-3 and ammonium acetate sum of cations. **Soil Science Society of America Journal**, 86(1), 47-50. DOI: <https://doi.org/10.1002/saj2.20340>

Manhaes, C. M. C., e Francelino, F. M. A. (2013). biota do solo e suas relações ecológicas com o sistema radicular. **Nucleus** (16786602), 10(2).

Manual de métodos de análise de solos / organizadores, Guilherme Kangussú Donagema... [et al.]. — Dados eletrônicos. — Rio de Janeiro : Embrapa Solos, 2011. 230 p. - (Documentos / **Embrapa Solos**, ISSN 1517-2627 ; 132).

Mao, X., Cai, T., Olyarchuk, J. G., e Wei, L. (2005). Automated genome annotation and pathway identification using the KEGG Orthology (KO) as a controlled vocabulary. **Bioinformatics**, 21(19), 3787-3793. DOI: 10.1093/bioinformática/bti430

Maret, W., e Li, Y. (2009). Coordination dynamics of zinc in proteins. **Chemical reviews**, 109(10), 4682-4707. DOI: <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1021/cr800556u>

Meena, K. K., Bitla, U. M., Sorty, A. M., Singh, D. P., Gupta, V. K., Wakchaure, G., ... e Kumar, S. (2020). Mitigation of salinity stress in wheat seedlings due to the application of phytohormone-rich culture filtrate extract of methylotrophic *actinobacterium nocardioides* sp. nimme6. **Frontiers in Microbiology**, 11.

Menzel, P., Ng, K. L., e Krogh, A. (2016). Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju. **Nature communications**, 7(1), 11257.

MLádková, P., MLádek, J., Hejduk, S., Hejcman, M., e Pakeman, R. J. (2018). Calcium plus magnesium indicates digestibility: the significance of the second major axis of plant chemical variation for ecological processes. **Ecology letters**, 21(6), 885-895. DOI: <https://doi.org/10.1111/ele.12956>

Mohammad, M., Badaluddin, N. A., Khandaker, M. M., e Asri, E. A. (2023). Potential of *Bacillus toyonensis* and *Paenibacillus alvei* as Plant Growth Promoter on *Melon Manis Terengganu* (MMT). **Basrah Journal of Agricultural Sciences**, 36(2), 109-120.

Montgomery, K., Williams, T. J., Brettle, M., Berengut, J. F., Ray, A. E., Zhang, E., ... e Ferrari, B. C. (2021). Persistence and resistance: survival mechanisms of *Candidatus Dormibacterota* from nutrient-poor Antarctic soils. **Environmental Microbiology**, 23(8), 4276-4294.

Nahas, E., Delfino, J. H., e Assis, L. C. (1997). Atividade microbiana e propriedades bioquímicas do solo resultantes da aplicação de gesso agrícola na cultura do repolho. **Scientia Agricola**, 54, 160-166.

Nguyen, T. T., e Marschner, P. (2016). Soil respiration, microbial biomass and nutrient availability in soil after repeated addition of low and high C/N plant residues. **Biology and fertility of soils**, 52, 165-176. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-015-1063-7>

Niu, G., Wang, R., Zhou, H., Yang, J., Lu, X., Han, X., e Huang, J. (2023). Nitrogen addition and mowing had only weak interactive effects on macronutrients in plant-soil systems of a typical steppe in Inner Mongolia. **Journal of Environmental Management**, 347, 119121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119121>

Nicol, G. W., Leininger, S., Schleper, C., e Prosser, J. I. (2008). The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria. **Environmental microbiology**, 10(11), 2966-2978. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01701>

Nosko, P.; Bliss, L. C.; Cook, F. D. The association of free-living nitrogen-fixing bacteria with the roots of high Arctic graminoids. **Arctic and Alpine Research**, v. 26, p.180-186, 1994.

Olander, L. P., e Vitousek, P. M. (2000). Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. **Biogeochemistry**, 49, 175-191. DOI:

<https://doi.org/10.1023/A:1006316117817>

Olanrewaju, O. S., e Babalola, O. O. (2019). Streptomyces: implications and interactions in plant growth promotion. **Applied microbiology and biotechnology**, 103, 1179-1188. DOI: 10.1007/s00253-018-09577-y

Olm, M. R., Brown, C. T., Brooks, B., e Banfield, J. F. (2017). dRep: a tool for fast and accurate genomic comparisons that enables improved genome recovery from metagenomes through de-replication. **The ISME journal**, 11(12), 2864-2868. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.1>

Ormeño-orrillo, E., e Martínez-romero, E. (2019). A Genomotaxonomy View of the *Bradyrhizobium* Genus. **Frontiers in Microbiology**, 10(June), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01334>.

Oteino, N., Lally, R. D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K. J., e Dowling, D. N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. **Frontiers in microbiology**, 6, 745. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00745

Overbeek, R., Olson, R., Pusch, G. D., Olsen, G. J., Davis, J. J., Disz, T., ... e Stevens, R. (2014). The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). **Nucleic acids research**, 42(D1), D206-D214. DOI: 10.1093/nar/gkt1226

Parejo-Moruno, F. M.; Rangel-Preciado, J. F.; Cruz-Hidalgo, E. **La inserción de China en el mercado internacional del ajo – un análisis descriptivo 1960-2014**. Economía Agraria y Recursos Naturales, v. 20, n. 1, pp. 77-101, 2020.

Parks, D. H., Imelfort, M., Skennerton, C. T., Hugenholtz, P., e Tyson, G. W. (2015). CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. **Genome research**, 25(7), 1043-1055. DOI: 10.1101/gr.186072.114

Peixoto, E. M. A. (1997). Nitrogênio. **Química Nova Na Escola**, 6, 1.

Peng, Z., Yang, Y., Liu, Y., Bu, L., Qi, J., Gao, H., ... e Jiao, S. (2023). The neglected roles of adjacent natural ecosystems in maintaining bacterial diversity in agroecosystems. **Global Change Biology**, 30(1). DOI: <https://doi.org/10.1111/gcb.16996>

Petriglieri, F., Kondrotaite, Z., Singleton, C., Nierychlo, M., Dueholm, M. K., e Nielsen, P. H. (2023). A comprehensive overview of the *Chloroflexota* community in wastewater treatment plants worldwide. **Msystems**, 8(6), e00667-23.

Praça L. B. et. al., (2012). Endophytic colonization by Brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* on cabbage seedlings grown in vitro. **Bt Res.** 3:11–19.

Qi, J., Aiuchi, D., Tani, M., Asano, SI e Koike, M. (2016). Potencial de *Bacillus thuringiensis* entomopatogênico como rizobactéria promotora do crescimento vegetal e agente de controle biológico da murcha de fusário do tomateiro. **Int J Environ Agric Res**, 2 (6), 55-63.

Pu, T., Liu, J., Jiang, D., Qian, J., Zhou, Z., Xia, C., ... e Duan, B. (2022). Microbial community diversity and function analysis of *Aconitum carmichaelii debeaux* in rhizosphere soil of farmlands in southwest china. **Frontiers in Microbiology**, 13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1055638>

Raij, B. van; Andrade, J.C. de; Cantarella, H.; Quaggio, J.A. **Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais**. Campinas, Instituto Agrônômico, 285p. 2001.

Ramos, P. D. P., Melloni, R., Silva, N. L. P., Melloni, E. G. P., Ferreira, G. M. D. R., Silva, L. F. D. O. D., e Silva, T. A. C. D. (2021). Isolamento, caracterização de rizobactérias e análise da produção de ácido indolacético visando ao enraizamento de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.). **Ciencia Florestal**, 31(4), 1612-1630.

Ramos, R. F., Sobucki, L., Rohrig, B., Ludwig, J., e Daroit, D. J. (2018). Diversidade funcional de bactérias isoladas de solos rizosférico e não rizosférico em cultura de milho. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 17(3), 417-427.

Ramos, M. L. G., Meneghin, M. F. S., Pedroso, C., Guimarães, C. M., e KONRAD, M. D. F. (2012). **Efeito dos sistemas de manejo e plantio sobre a densidade de grupos funcionais de microrganismos, em solo de cerrado**.

Rangseekaew, P., Barros-Rodríguez, A., Pathom-aree, W., e Manzanera, M. (2021). Deep-sea actinobacteria mitigate salinity stress in tomato seedlings and their biosafety testing. **Plants**, 10(8), 1687. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10081687>

Rangel, L. I., Henkels, M. D., Shaffer, B. T., Walker, F. L., Davis, E. W., Stockwell, V. O., ... e Loper, J. E. (2016). Characterization of toxin complex gene clusters and

insect toxicity of bacteria representing four subgroups of *Pseudomonas fluorescens*. **PloS one**, 11(8), e0161120.

Reis, V. M.; Pedraza, R. O.; Teixeira, K. R. dos S. Repositório de Informação Tecnológica da Embrapa – EMBRAPA. **O gênero *Azospirillum*: diversidade e relação filogenética das espécies**. 2010. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/84635/1/DOC273-10.pdf>. Acesso em: 17 de janeiro de 2023.

Reis, C. R. G., Pacheco, F. S., Reed, S. C., Tejada, G., Nardoto, G. B., Forti, M. C., e Ometto, J. P. (2020). Science of the Total Environment Biological nitrogen fixation across major biomes in Latin America : Patterns and global change effects. **Science of the Total Environment**, 746(2020), 140998. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140998>

Resende, F. V. Repositório de Informação Tecnológica da Embrapa - EMBRAPA. **Desafios da produção e inovações tecnológicas para cultura do alho no Brasil**. 2018. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1100347>. Acesso em: 12 de janeiro de 2023.

Resende, F. V. (2018). **Desafios da produção e inovações tecnológicas para cultura do alho no Brasil**. Hortaliças em Revista, 7(25), 16-17.

Rice, P., Longden, I., e Bleasby, A. (2000). EMBOSS: the European molecular biology open software suite. **Trends in genetics**, 16(6), 276-277. DOI: 10.1016/s0168-9525(00)00204-2

Rocha, C.S. **Desenvolvimento de Ferramentas de Bioinformática para Análises de Expressão Gênica em Larga Escala**. 2011. Tese (Doutorado em Fitopatologia Médica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/309731/1/Rocha_CristianedeSouza_D.pdf. Acesso em: 15 de novembro de 2024.

Rodrigues, A. A., Araújo, M. V. F., Soares, M. D. S., Oliveira, B. F. R. d., Sibov, S. T., e Vieira, J. D. G. (2018). Isolation and screening for multi-trait plant growth promoting actinobacteria from organic sugarcane rhizosphere. **International Journal of Microbiology Research**, 10(5), 1193. DOI:

Romeiro, A. R. (1998). **Meio ambiente e dinâmica de inovações na agricultura**. Annablume Editora.

Rosenberg, E., e Gophna, U. (Eds.). (2011). **Beneficial microorganisms in multicellular life forms**. Springer Science e Business Media.

Sadeghi, M., Moezzi, A., Gholami, A., Babaeinejad, T., e Panahpour, E. (2021). Investigating the effect of long-term sugarcane cultivation on some soil properties of soils in karoun agro-industry unit, khuzestan province, iran. **Tarım Bilimleri Dergisi**, 9-15. DOI: <https://doi.org/10.15832/ankutbd.570801>

Sahu, B., Singh, J., Shankar, G., e Pradhan, A. (2018). *Pseudomonas fluorescens* PGPR bacteria as well as biocontrol agent: A review. **International Journal of Chemical Studies**, 6(2), 01-07.

Shahbaz, M., Kuzyakov, Y., Sanaullah, M., Heitkamp, F., Zelenev, V., Kumar, A., e Blagodatskaya, E. (2017). Microbial decomposition of soil organic matter is mediated by quality and quantity of crop residues: mechanisms and thresholds. **Biology and Fertility of Soils**, 53, 287-301. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-016-1174-9>

Sharma, A., Weindorf, D. C., Wang, D., e Chakraborty, S. (2015). Characterizing soils via portable X-ray fluorescence spectrometer: 4. Cation exchange capacity (CEC). **Geoderma**, 239, 130-134. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.10.001>

Sentausa, E., e Fournier, P. (2013). Advantages and limitations of genomics in prokaryotic taxonomy. **Clinical Microbiology and Infection**, 19(9), 790–795. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12181>

Setubal, J.C. **A origem e o sentido da bioinformática**. Com Ciência [internet]. Acesso em 16 de novembro de 2024. Disponível em: <http://www.comciencia.br/reportagens/bioinformatica/bio10.shtml>

Schneijderberg, M., Schmitz, L., Cheng, X., Polman, S., Franken, C., Geurts, R., ... e Bisseling, T. (2018). A genetically and functionally diverse group of non-diazotrophic *bradyrhizobium* spp. colonizes the root endophytic compartment of *Arabidopsis thaliana*. **BMC Plant Biology**, 18(1).

Schmidt, S. B., e Husted, S. (2019). The biochemical properties of manganese in plants. **Plants**, 8(10), 381. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants8100381>

Shao, S., Chen, M., Liu, W., Hu, X., Wang, E. T., Yu, S., ... e Li, Y. (2020). Long-term monoculture reduces the symbiotic rhizobial biodiversity of peanut. **Systematic and Applied Microbiology**, 43(5), 126101. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2020.126101>

Sharan, A., Darmwal, N. S., e Gaur, R. (2008). *Xanthomonas campestris*, a novel stress tolerant, phosphate-solubilizing bacterial strain from saline–alkali soils. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 24(6), 753-759.

Sheng, H., Jiang, Y., Rahmati, M., Chia, J. C., Dokuchayeva, T., Kavulych, Y., ... e Vatamaniuk, O. K. (2021). YSL3-mediated copper distribution is required for fertility, seed size and protein accumulation in *Brachypodium*. **Plant Physiology**, 186(1), 655-676. DOI: <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1093/plphys/kiab054>

Silva, G. G. Z., Green, K. T., Dutilh, B. E., e Edwards, R. A. (2016). SUPER-FOCUS: a tool for agile functional analysis of shotgun metagenomic data. **Bioinformatics**, 32(3), 354-361. DOI: 10.1093/bioinformática/btv584

Simonin, M., e Richaume, A. (2015). Impact of engineered nanoparticles on the activity, abundance, and diversity of soil microbial communities: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, 22(18), 13710-13723. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4171-x>

Soares, W. L., e Porto, M. F. (2007). Atividade agrícola e externalidade ambiental: uma análise a partir do uso de agrotóxicos no cerrado brasileiro. **Ciência e Saúde Coletiva**, 12, 131-143.

Soltis, D. E., Soltis, P. S., Morgant, D. R., Swensent, S. M., Mullin, B. C., Dowdi, J. M., e Li, P. G. M. (1995). Chloroplast gene sequence data suggest a single origin of the predisposition for symbiotic nitrogen fixation in angiosperms. **Evolution**, 92(March), 2647–2651.

Souza, R. M. D. (2022). **Coinoculação de alho com *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens***.

Sun, S. L., Yang, W. L., Fang, W. W., Zhao, Y. X., Guo, L., e Dai, Y. J. (2018). The plant growth-promoting rhizobacterium *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 regulates the level of indole-3-acetic acid synthesized from indole-3-acetonitrile. **Applied and environmental microbiology**, 84(16), e00298-18. DOI: 10.1128/AEM.00298-18

Tayyab, M., Yang, Z., Zhang, C., Islam, W., Lin, W., e Zhang, H. (2021). Sugarcane monoculture drives microbial community composition, activity and abundance of agricultural-related microorganisms. **Environmental Science and Pollution Research**, 28, 48080-48096. DOI: 10.1007/s11356-021-14033-y

Tg, N. (1999). Nitrogen in crop production : An account of global flows adds recycled in organic up by harvested and Quantification of N losses from crop to 26-60. **GLOBAL BIOGEOCHEMICAL CYCLES**, 13(2), 647–662.

Umezawa, K., Kojima, H., Kato, Y., e Fukui, M. (2020). Disproportionation of inorganic sulfur compounds by a novel autotrophic bacterium belonging to *Nitrospirota*. **Systematic and Applied Microbiology**, 43(5), 126110. DOI: 10.1016/j.syapm.2020.126110

Vaclav, S. (1988). Volume 75 Annals Number 1 of the Botanical Garden. **Missouri Botanical Garden**, 75(1), 1–34.

Verma, K. K., Song, X. P., Yadav, G., Degu, H. D., Parvaiz, A., Singh, M., Huang, H. R., Mustafa, G., Xu, L., e Li, Y. R. (2022). Impact of Agroclimatic Variables on Proteogenomics in Sugar Cane (*Saccharum* spp.) Plant Productivity. **ACS omega**, 7(27), 22997–23008. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01395>

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, 255, 571–586.

Vessey, J. K., Pawlowski, K., e Bergman, B. (2004). Root-based N₂ -fixing symbioses : Legumes , actinorhizal plants , *Parasponia* sp . and *cycads*. **Plant and Soil**, 266, 205–230.

Viana, L. T., Bustamante, M. M. D. C., Molina, M., Pinto, A. D. S., Kisselle, K., Zepp, R., e Burke, R. A. (2011). Microbial communities in Cerrado soils under native vegetation subjected to prescribed fire and under pasture. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46, 1665-1672.

Vyas, P., e Kaur, R. (2021). Culturable endophytic *Pseudomonas fluorescens* Z1B4 isolated from *Zanthoxylum alatum* Roxb. with stress-tolerance and plant growth-promoting potential. **Biotechnologia**, 102(3), 285–295. <https://doi.org/10.5114/bta.2021.108725>.

Vyas, P., Joshi, R., Sharma, K. C., Rahi, P., Gulati, A., e Gulati, A. (2010). Cold-adapted and rhizosphere-competent strain of *Rahnella* sp. with broad-spectrum plant growth-promotion potential. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, 20(12), 1724-1734.

Vyas, P., e Kaur, R. (2019). Culturable stress-tolerant plant growth-promoting bacterial endophytes associated with *Adhatoda vasica*. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 19(2), 290-298.

Wang, R., Zhang, H., Sun, L., Qi, G., Shu, C., e Zhao, X. (2017). Microbial community composition is related to soil biological and chemical properties and bacterial wilt outbreak. **Scientific Reports**, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00472-6>

Wang, H., Wang, Z., e Dong, X. (2019). Anatomical structures of fine roots of 91 vascular plant species from four groups in a temperate forest in northeast china. **Plos One**, 14(5), e0215126. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215126>

Wang, J., Li, M., Zhou, Q., e Zhang, T. (2023). Effects of continuous cropping jiaoshi muskmelon on rhizosphere microbial community. **Frontiers in Microbiology**, 13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1086334>

Wang, R., Zhang, H., Sun, L., Qi, G., Shu, C., e Zhao, X. (2017). Microbial community composition is related to soil biological and chemical properties and bacterial wilt outbreak. **Scientific Reports**, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00472-6>

Wang, Z., You, R., Han, H., Liu, W., Sun, F., e Zhu, S. (2024). Effective binning of metagenomic contigs using contrastive multi-view representation learning. **Nature Communications**, 15(1), 585. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44290-z>

Watson, J. **DNA: The secret of life**. Arrow Books. 2004.

Wickham, H., Chang, W., e Wickham, M. H. (2016). Package 'ggplot2'. **Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. Version**, 2(1), 1-189.

Wood, D. E., Lu, J., e Langmead, B. (2019). Improved metagenomic analysis with Kraken 2. **Genome biology**, 20, 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0>

Xue, C. X., Lin, H., Zhu, X. Y., Liu, J., Zhang, Y., Rowley, G., ... e Zhang, X. H. (2021). DiTing: a pipeline to infer and compare biogeochemical pathways from metagenomic and metatranscriptomic data. **Frontiers in Microbiology**, 12, 698286.

Yadav, R., e Pathak, G. S. (2016). Young consumers' intention towards buying green products in a developing nation: Extending the theory of planned behavior. **Journal of cleaner production**, 135, 732-739.

Young, C. C.; Hupfer, H.; Siering, C.; Ho, M.-J.; Arun, A. B.; Lai, W.-A.; Rekha, P. D.; Shen, F.-T.; Hung, M.-H.; Chen, W.-M.; Yassin, A. F. *Azospirillum rugosum* sp. nov., isolated from oil-contaminated soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, p. 959-963, 2008.

Yu, Y., Zhou, Y., Janssens, I. A., Deng, Y., He, X., Liu, L., ... e Xiao, C. (2023). Divergent rhizosphere and non-rhizosphere soil microbial structure and function in long-term warmed steppe due to altered root exudation. **Global Change Biology**, 30(1). DOI: <https://doi.org/10.1111/gcb.17111>

Zaheer, M. S., Ali, H. H., Iqbal, M. A., Erinle, K. O., Javed, T., Iqbal, J., Hashmi, M. I. U., Mumtaz, M. Z., Salama, E. A. A., Kalaji, H. M., Wróbel, J., e Dessoky, E. S. (2022). Cytokinin Production by *Azospirillum brasilense* Contributes to Increase in Growth, Yield, Antioxidant, and Physiological Systems of Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Frontiers in microbiology**, 13, 886041. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.886041>.

Zambrano, E. R.; Jiménez Salgado, T.; Tapia Hernández, A. **Estudio de bacterias asociadas a orquídeas (Orchidaceae)**. Lankesteriana, n. 71-2, p. 322-325, 2007.

Zhang, Y., Xu, Z., Jiang, D., e Jiang, Y. (2013). Soil exchangeable base cations along a chronosequence of *Caragana microphylla* plantation in a semi-arid sandy land, China. **Journal of Arid Land**, 5, 42-50.

Zerrouk, I. Z., Rahmoune, B., Khelifi, L., Mounir, K., Baluska, F., e Ludwig-Müller, J. (2019). Algerian Sahara PGPR confers maize root tolerance to salt and aluminum toxicity via ACC deaminase and IAA. **Acta Physiologiae Plantarum**, 41(6), 1-10.

Zimmermann, C. L. (2009). Monocultura e transgenia: impactos ambientais e insegurança alimentar. **Veredas do Direito–Direito Ambiental e Desenvolvimento Sustentável**, 6(12).

Zhu, X., Sun, L., Song, F., Liu, S. Q., Liu, F. L., e Li, X. N. (2018). Soil microbial community and activity are affected by integrated agricultural practices in china. **European Journal of Soil Science**, 69(5), 924-935. DOI: <https://doi.org/10.1111/ejss.12679>