

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**CRESCIMENTO DE MUDAS FRUTÍFERAS SOB AÇÃO DE
MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO**

**Carlos Henrique Barbosa Santos
Engenheiro Agrônomo**

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**CRESCIMENTO DE MUDAS FRUTÍFERAS SOB AÇÃO DE
MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO**

Carlos Henrique Barbosa Santos

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique de Almeida Teixeira

Coorientador: Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Produção Vegetal)**

Santos, Carlos Henrique Barbosa
S237c Crescimento de mudas frutíferas sob ação de microrganismos
promotores de crescimento / Carlos Henrique Barbosa Santos. –
Jaboticabal, 2017
x, 71 p.; il.; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Gustavo Henrique de Almeida Teixeira
Coorientador: Everlon Cid Rigobelo
Banca examinadora: Ane Sizuki Nociti Dezem, Eduardo Augusto
Girardi, Antonio Baldo Geraldo Martins, Renata Aparecida de Andrade
Bibliografia

1. Bactérias promotoras do crescimento de plantas. 2.
Encapsulamento. 3. Inóculo microbiano. 4. Propagação de frutíferas.
5. Substrato. 6. Desidrogenase. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 634.1:631.461

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA TESE: CRESCIMENTO DE MUDAS FRUTÍFERAS SOB AÇÃO DE
MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO**

AUTOR: CARLOS HENRIQUE BARBOSA SANTOS

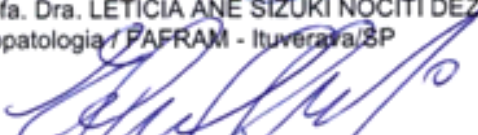
ORIENTADOR: GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA

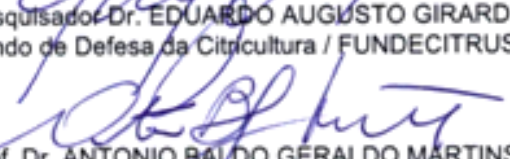
COORIENTADOR: EVERLON CID RIGOBELLO

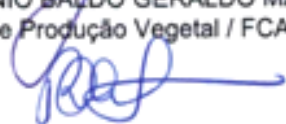
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. LETÍCIA ANE SIZUKI NOCITI DEZEM
Fitopatologia / PAFRAM - Ituverava/SP


Pesquisador Dr. EDUARDO AUGUSTO GIRARDI
Fundo de Defesa da Citricultura / FUNDECITRUS - Araraquara/SP


Prof. Dr. ANTONIO BALDO GERALDO MARTINS
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. RENATA APARECIDA DE ANDRADE
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 05 de setembro de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CARLOS HENRIQUE BARBOSA SANTOS– natural de Sapeaçu, Estado da Bahia, nasceu em 20 de setembro de 1984. Graduiu-se em Agronomia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Câmpus de Cruz das Almas (2006-2011). Foi bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) desenvolvendo o projeto intitulado “Avaliação de diferentes épocas de colheita de espécies medicinais utilizadas no programa ervas” (2008-2009). Atuou no Projeto “Ervanários do Recôncavo de Valorização da Agroecologia Familiar e da Saúde - PROJETO ERVAS”, como bolsista do CNPq, na modalidade ITI-A-Iniciação Tecnológica e Industrial (2009-2010). Também foi bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Extensão Universitária (PIBEX) com projeto voltado à agricultura familiar (2010-2011). Foi monitor voluntário das disciplinas Plantas Medicinais, Condimentares e Aromáticas e Tecnologia e Beneficiamento de Sementes. Em agosto de 2011, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), obtendo o título de Mestre em dezembro de 2013, com a dissertação intitulada “Propagação, desempenho e sobrevivência a estresses bióticos de maracujazeiro amarelo enxertado em espécies de *Passiflora*”. Em março de 2014, ingressou no curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), da Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (UNESP/FCAV), sendo bolsista CAPES, finalizando-o com o desenvolvimento deste trabalho, parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

“Todo jardim começa com um sonho de amor. Antes que qualquer árvore seja plantada ou qualquer lago seja construído, é preciso que as árvores e os lagos tenham nascido dentro da alma. Quem não tem jardins por dentro, não planta jardins por fora e nem passeia por eles...”

Rubem Alves

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo cuidado dispensado a mim, na conquista de mais um objetivo.

A meus pais, Maria de Lourdes Barbosa Santos e José Souza dos Santos, pelo amor incondicional.

A meus avôs, Benedito Borges e Edézio Barbosa (*in memoriam*) e as minhas avós Erotildes Queiroz e Maria São Pedro Souza (*in memoriam*), pelo carinho.

A Patricia Santana de Novais, minha companheira, pelo amor, paciência e incentivo.

Aos meus irmãos, Adriana, Cristina e Adriano, por se fazerem presentes mesmo estando distante.

A toda minha família, pelos seus valiosos conselhos, atenção, carinho e incentivo.

À UNESP/FCAV e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), por todas as oportunidades que me proporcionaram.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de doutorado.

Ao professor Dr. Antonio Baldo Geraldo Martins, pelos valiosos ensinamentos, pela amizade e pelo exemplo de profissional.

Aos professores Drs. Gustavo Henrique de Almeida Teixeira e Everlon Cid Rigobelo, pelos valiosos ensinamentos, confiança e disponibilidade na realização deste trabalho.

Ao professor Dr. José Carlos Barbosa, pela atenção e auxílio na realização das análises estatísticas.

Aos membros da banca examinadora da qualificação, Profa. Dra. Renata Aparecida de Andrade e Profa. Dra. Kátia Lopes Piveta, por todas as contribuições para este trabalho.

Aos membros da banca examinadora da defesa, Profa. Dra. Letícia Ane Suzuki Nociti Dezem, Dr. Eduardo Augusto Girardi, Prof. Dr. Antonio Baldo Geraldo Martins e Profa. Dra. Renata Aparecida de Andrade, por todas as sugestões e conhecimentos que aprimoraram este trabalho.

Aos amigos que estiveram presentes, contribuindo com seus ensinamentos, disposição e amizade. Em especial a Estevan Penha, Ruy Aguiar, Riviane Donha e Fernanda Nascimento.

Aos funcionários da UNESP/FCAV, em especial a Rosane Innocente (secretária do Departamento de Produção Vegetal – Horticultura), Edna Daquila (secretária do laboratório de microbiologia), Luiz Carlos de Assis (técnico do laboratório de microbiologia) e ao Sidney Bedim (assistente do Ripado de Fruticultura), pela amizade e atenção do dia-a-dia.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Potencial da fruticultura no Brasil.....	3
2.2 Uso de inoculante microbiano na agricultura	4
2.3 Uso de microrganismos na produção de mudas	5
2.4 Biomassa microbiana do solo	6
2.5 Os microrganismos e suas enzimas	8
2.5.1 Atividade enzimática da desidrogenase	9
2.6 Encapsulação de microrganismos	10
3. REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO 2 – Promoção do crescimento de mudas frutíferas por meio de microrganismos encapsulados.....	23
1. INTRODUÇÃO	24
2. MATERIAL E MÉTODOS	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4. CONCLUSÃO	31
5. REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO 3 – Parâmetros microbiológicos em substrato de mudas frutíferas inoculado com microrganismos encapsulados	44
1. INTRODUÇÃO	45
2. MATERIAL E MÉTODOS	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4. CONCLUSÃO	56
5. REFERÊNCIAS	56
CAPÍTULO 4 – Considerações finais	71

CRESCIMENTO DE MUDAS FRUTÍFERAS SOB AÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO

RESUMO – A utilização de microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) tem sido aceita como alternativa a redução do uso de adubos químicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar dois métodos de encapsulamento de diferentes MPCP para verificar o estabelecimento destes microrganismos no solo e, consequentemente, o efeito do uso dos MPCP no crescimento de mudas de espécies frutíferas. O inóculo microbiano continha as seguintes espécies: *Azospirillum brasilense*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Trichoderma* spp. e Isolado 411. As espécies frutíferas avaliadas foram: *Myrciaria cauliflora* (DC.) O. Berg (jabuticaba); *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral (cabeludinha); *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh (camu-camu); *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixama); *Diospyros kaki* L. (caqui); *Garcinia brasiliensis* Mart. (bacupari); *Annona muricata* L. (graviola); *Duguetia lanceolata* A. St. – Hil. (pindaíba); *Chrysophyllum cainito* L. (caimito); *Anacardium occidentale* L. (caju); *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. (nêspera) e *Litchi chinensis* Sonn. (lichia). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 (controle, alginato de sódio e argila) x 2 (presença e ausência de inóculo microbiano) com cinco repetições (uma muda por repetição). As mudas foram mantidas em 50% de iluminação à temperatura média de 22,5°C, durante noventa dias, sendo avaliada a altura da planta, diâmetro do colo, massa seca da parte aérea e de raiz, atividade enzimática da desidrogenase, determinação do amônio e nitrato, fosfato solúvel em bicarbonato, carbono da biomassa microbiana e número total de bactérias. O diâmetro do caule para as mudas de *M. dubia* foi maior quando não se utilizou os MPCP, sejam eles encapsulados ou não. A presença de MPCP, independentemente do encapsulante utilizado, promoveu melhor desenvolvimento das mudas de caimito (altura, diâmetro do caule e massa seca de raiz) e de lichia (diâmetro do caule e massa seca da planta). Desta forma, os MPCP favorecem o crescimento das mudas destas espécies. A atividade microbiana no substrato não foi influenciada pela adição de microrganismos encapsulados. Os agentes encapsulantes argila e alginato de sódio, com ou sem inóculo microbiano, podem modificar a atividade enzimática da desidrogenase, o nitrogênio e o carbono da biomassa microbiana no solo, porém são dependentes da espécie frutífera cultivada.

Palavras-chave: Bactérias promotoras do crescimento de plantas, encapsulamento, inóculo microbiano, propagação de frutíferas, substrato, desidrogenase.

GROWTH OF FRUIT SEEDLINGS UNDER THE ACTION OF GROWTH PROMOTING MICROORGANISMS

ABSTRACT – The use of plant growth promoting microorganisms (PGPM) has been accepted as an alternative to reduce the use of chemical fertilizers. The objective of this study was to evaluate two methods of encapsulation of different PGPM to verify the establishment of these microorganisms in the soil and, consequently, the effect of PGPM on the growth of seedlings of fruit species. The microbial inoculums contained the species: *Azospirillum brasilense*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Trichoderma* spp. and Isolado 411. The fruit species evaluated were: *Myrciaria cauliflora* (DC.) O. Berg; *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral; *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh; *Eugenia brasiliensis* Lam.; *Diospyros kaki* L.; *Garcinia brasiliensis* Mart.; *Annona muricata* L.; *Duguetia lanceolata* A. St. – Hil.; *Chrysophyllum cainito* L.; *Anacardium occidentale* L.; *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. and *Litchi chinensis* Sonn. The experimental design was a completely randomized, in a factorial arrangement 3 (control, sodium alginate and clay) x 2 (presence and absence of microbial inoculum) with five replicates (one seedling per replicate). Seedlings were maintained in 50% illumination at an average temperature of 22.5 °C for ninety days, and evaluated for plant height, diameter, root shoot and stem dry shoot, enzymatic activity of dehydrogenase, determination of ammonium and nitrate, bicarbonate soluble phosphate, carbon of the microbial biomass and total number of bacteria. The stem diameter of *M. dubia* seedlings was higher when PGPM was not used, either encapsulated or not. The presence of PGPM, regardless the encapsulant used, promoted a better development of *C. cainito* (height, stem diameter and root dry mass) and *L. chinensis* (stem diameter and plant dry mass) seedlings. In this way, the PGPM favor the growth of the seedlings of these species. Microbial activity in the substrate was not influenced by the addition of encapsulated microorganisms. The encapsulating agent clay and sodium alginate, with or without microbial inoculum, may modify the enzymatic activity of the dehydrogenase, the nitrogen and the carbon of the microbial biomass in the soil, but are dependent on the cultivated fruit species.

Keywords: Plant growth promoting bacteria, encapsulation, fruit propagation, microbial inoculums, substrate, dehydrogenase.

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de plantas frutíferas é uma atividade econômica de grande importância, que gera emprego e renda aos produtores rurais, além de ser uma alternativa que contribui para a melhoria da qualidade na alimentação das famílias.

A produção de mudas frutíferas tem expandido e exigido, cada vez mais, conhecimentos técnicos para seu bom desenvolvimento, garantindo assim uma melhor qualidade do fruto ofertado no mercado. Um dos principais fatores que influenciam na qualidade dos frutos é a da qualidade da muda (SILVA et al., 2011).

A produção de mudas frutíferas sofre influência de fatores climáticos e edáficos, e.g. luz, temperatura, troca de gases, água, substrato e nutrição, e bióticos, como patógenos, pragas e micróbios da rizosfera (HARTMANN et al., 2010).

Quanto ao substrato, destina-se a sustentar as plantas durante o enraizamento e servir de fonte de nutrientes para as mesmas. Uma mistura ideal é aquela que tem porosidade suficiente para proporcionar aeração adequada, que apresente boa drenagem e tenha capacidade de retenção de água satisfatória para oferecer umidade adequada (ZIETEMANN; ROBERTO, 2007; HARTMANN et al., 2010).

Os microrganismos, quando encontradas em habitats naturais, são muitas vezes colonizadores do interior e exterior de órgãos de plantas e, nestes termos, podem ser benéficos, neutros ou prejudiciais ao seu crescimento e desenvolvimento (MARIANO et al., 2004). Os microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) exercem efeito benéfico, podendo ser de vida livre ou estar em simbiose com a planta (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Estes podem ser utilizadas para o tratamento de sementes, na produção de mudas, incorporadas ao substrato de plantio, no tratamento de estacas, tubérculos e raízes, além de serem pulverizadas na parte aérea (folhagem e frutos) e em pós-colheita (FREITAS, 2007).

Os MPCP estimulam diretamente na fixação de nitrogênio (HAN et al., 2005), são capazes de solubilizar nutrientes (RODRÍGUEZ; FRAGA, 1999; SOUZA et al., 2017), produzir fitoreguladores de crescimento por meio da presença de 1-amino-

ciclopropano1-carboxilato (ACC) deaminase (DONATE-CORREA et al., 2004), ácido indol acético (AIA) (CATTELAN, 1999), entre outros benefícios (SINGH; PANDEY; SING, 2011).

Indiretamente, os MPCP atuam como agentes de controle biológico pela produção de ácido cianídrico, bactericidas e antibióticos, competição por espaço, liberação de Fe^{+3} e outros nutrientes, parasitismo, indução de resistência e proteção cruzada (BERNARDES et al., 2010).

A técnica de encapsulação consiste em envolver materiais sólidos, líquidos e gasosos em pequenas cápsulas que liberam seu conteúdo sob condições controladas. Atualmente vem sendo utilizada para manter a estabilidade dos microrganismos, podendo aumentar a sobrevivência dos mesmos no solo. Existem diversos tipos de materiais encapsulantes, como, por exemplo, alginato de cálcio, proteínas do soro do leite e gomas (SCHOEBITZ; LÓPEZ; ROLDÁN, 2013; VEMMER; PATEL, 2013).

Existem muitas dificuldades de estabelecimento dos microrganismos promotores do crescimento de plantas no solo e/ou na rizosfera, como a reduzida sobrevivência a condições adversas e competição com os microrganismos nativos. O encapsulamento, no entanto, pode promover um efeito protetor destes microrganismos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar dois métodos de encapsulamento de diferentes MPCP para verificar o estabelecimento destes microrganismos no solo e, conseqüentemente, o efeito do uso dos MPCP no crescimento de mudas de espécies frutíferas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Potencial da fruticultura no Brasil

A fruticultura é uma das atividades econômicas que merece destaque no agronegócio brasileiro. A grande diversidade de frutas encontradas aqui só é possível porque o país apresenta variados tipos de solo e clima, o que garante a produção durante todo o ano de frutas tropicais, subtropicais e temperadas (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2017).

De acordo com os últimos dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a fruticultura brasileira somou 38,775 milhões de toneladas de frutas frescas no ano de 2016. Mesmo esse resultado tendo diminuído, em comparação as 40,953 milhões de toneladas registradas em 2015 (IBGE, 2016), o Brasil mantém a posição de terceiro produtor mundial de frutas, ficando atrás apenas de China e Índia, o que mostra a relevância do setor para a economia brasileira (AGRIANUAL, 2016).

O setor frutícola emprega 5,6 milhões de pessoas, que corresponde a 27% da mão de obra agrícola. Para cada US\$ 10 mil investidos na fruticultura tecnificada, são gerados, em média, três empregos diretos permanentes e dois indiretos. É uma atividade importante para o desenvolvimento rural do país, principalmente por estar fundamentada em pequenas e médias propriedades (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2016).

O IBGE divide a produção nacional de frutas na Produção Agrícola Municipal (PAM) em 22 produtos, sendo três classificados como oriundas de lavouras temporárias (abacaxi, melancia e melão) e 19 pertencentes às lavouras permanentes (abacate, banana, caqui, castanha-de-caju, coco-da-baía, figo, goiaba, laranja, limão, maçã, mamão, manga, maracujá, marmelo, noz, pera, pêssego, tangerina e uva). Em 2016, os plantios com frutíferas representavam 2,5 milhões de hectares, correspondendo a 3,4% da área total ocupada pela agricultura brasileira, com um valor da produção avaliado em R\$ 33,3 bilhões de reais, acréscimo de 26,0% quando comparado ao obtido em 2015 (IBGE, 2016).

2.2 Uso de inoculante microbiano na agricultura

O desenvolvimento de inoculantes microbianos tem aumentado devido ao reconhecimento dos efeitos nocivos ao ambiente da aplicação excessiva de fertilizantes químicos (HUNGRIA, 2011). A produção agrícola sustentável pode ser alcançada enfatizando o uso de microrganismos promotores de crescimento como inoculantes microbianos (SCHOEBITZ; LÓPEZ; ROLDÁN, 2013).

O solo funciona como um sistema vivo que sustenta a produtividade biológica, promovendo a qualidade do ar e da água e, em geral, mantendo vegetais, animais e a saúde humana. Assim, um solo com qualidade fornece condições para as plantas expressarem o seu máximo potencial produtivo (VEZZANI; MIELNICZUC, 2009).

Por outro lado, as plantas também podem afetar a biota do solo influenciando a quantidade e, muitas vezes, a qualidade dos substratos orgânicos em que estão estabelecidas, pois podem estabelecer associações com microrganismos do solo (VIKETOFT et al., 2005). A coexistência de várias espécies de plantas e seus exsudatos radiculares podem aumentar a diversidade dos microrganismos do solo pelo aumento da heterogeneidade de substratos orgânicos liberados (BROUGHTON; GROSS, 2000) e pela serrapilheira que é decomposta (HOLANDA et al., 2015). As plantas podem ainda desempenhar funções importantes na determinação da atividade enzimática do solo (SINGH; KUMAR, 2008).

Microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) têm sido citados como beneficiadores de uma gama de espécies vegetais. Dentre estas espécies, as mais frequentemente citadas são as anuais, geralmente de ciclo curto, como a abóbora (CHEN et al., 2000), alface (FREITAS; MELLO; DONZELI, 2003), feijão (SILVEIRA et al., 1995), trigo (LUZ, 2001) etc; no entanto, existem também estudos da promoção de crescimento em plantas perenes, como café (FREITAS, 1989), abeto (CHANWAY et al., 2000) e citros (FREITAS; VILDOSO, 2004).

Uma das maneiras de exercer benefício, além da promoção direta do crescimento, é indiretamente, o controle biológico de fitopatógenos, em que as formas de atuação dos microrganismos também podem ser variados (FREITAS; PIZZINATTO, 1991). Barka et al. (2000) observaram o aumento da resistência de videiras a *Botrytis cinerea*, possivelmente associada ao aumento da produção de

citocininas na rizosfera. A utilização de MPCP, direta ou indiretamente, teria a vantagem de diminuir a utilização de insumos químicos, com benefícios tanto de ordem econômica quanto de ordem ecológica, uma vez que tais produtos geram, frequentemente, problemas de contaminação ambiental.

Em plantas anuais, o benefício, se consistir em aumento de matéria seca, poderá resultar em encurtamento do ciclo ou em aumento na produção, dependendo da espécie (FREITAS; MELLO; DONZELI, 2003). Em plantas perenes, uma forma de benefício seria a diminuição do período em que a muda passa em viveiro, o que é o caso das frutíferas em geral, nas quais este tipo de manipulação é na maioria das vezes desejável. Dentre outras formas de benefício, destaca-se a solubilização de fosfatos, que, associada à presença de micorrizas arbusculares, pode favorecer grandemente a nutrição de plantas (CARDOSO et al., 1986).

Na produção de mudas em viveiro, seria aconselhável que a inoculação dos microrganismos fosse feita no substrato, de modo que a colonização da rizosfera e o benefício ocorressem o mais cedo possível (CHANWAY et al., 2000; STURZ; NOWAK, 2000).

2.3 Uso de microrganismos na produção de mudas

A produção de mudas é uma das etapas mais importantes do sistema de produção agrícola, uma vez que dela depende o desempenho final das plantas no campo (HARTMANN et al., 2010). Quando falamos em espécies perenes, como as frutíferas, esta etapa merece uma atenção ainda maior, visto que não é possível aqui uma renovação do pomar a cada ano.

O substrato é o meio onde se desenvolvem as raízes das plantas produzidas em sementeiras e/ou viveiros de mudas olerícolas, ornamentais, frutíferas ou silvícolas (ROS et al., 2015). Ele deve garantir, por meio de sua fase sólida, a manutenção mecânica do sistema radicular e estabilidade da planta; da fase líquida o suprimento de água e nutrientes; e da fase gasosa, o suprimento de oxigênio e o transporte de dióxido de carbono entre as raízes e o ar externo (BRAGA JUNIOR; BRUNO; ALVES, 2010; HARTMANN et al., 2010). Deve ainda estar isento de

elementos minerais ou qualquer outra substância em concentração fitotóxica, assim como de fitopatógenos, pragas e plantas indesejáveis (SOUZA et al., 2001).

Com relação à qualidade dos substratos, um aspecto pouco estudado é o efeito da microbiota na qualidade das mudas produzidas. Sabe-se que a microbiota do solo exerce efeitos diretos e indiretos na produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas (ANDREOLA; FERNANDES, 2007) e, provavelmente, as populações microbianas naturais ou adicionadas aos substratos de mudas desempenham funções similares às do solo, tais como decomposição de resíduo orgânico com a liberação de nutrientes e CO₂ (ALVES et al., 2011; CAPUANI et al., 2012); produção de substâncias estimuladoras do crescimento vegetal (HAYAT et al., 2010; SOUZA et al., 2017); estabelecimento de simbiose mutualista com plantas (CARNEIRO; SIQUEIRA; DAVIDE, 2004); e controle biológico de pragas e doenças (RUANO-ROSA et al., 2014; LIU et al., 2016; LIU, et al., 2017).

Os MPCP têm ganhado destaque na agricultura, devido seu baixo custo, fácil acesso e modo de aplicação simples. Em geral, os MPCP quando usados sozinhos ou em consórcios, resulta em impacto positivo na produção de diversas culturas (ZAIDI et al., 2015). Os resultados promissores dos estudos realizados até o momento, sobre a utilização de MPCP com inúmeras atividades de promoção de crescimento de plantas, em diferentes sistemas de produção, estimulam o desenvolvimento desta pesquisa no estudo de microrganismos promotores de crescimento em mudas de espécies frutíferas.

2.4 Biomassa microbiana do solo

O solo funciona como um substrato de crescimento para as plantas, regulando o fluxo de água no ambiente e age como meio intermediário de armazenamento de alguns elementos no ecossistema. Apresenta-se como um complexo habitat que regula a produtividade da planta e promove a manutenção de parte dos ciclos biogeoquímicos pela atividade de microrganismos capazes de degradar compostos orgânicos (AVIDANO et al., 2005).

A biomassa microbiana do solo (BMS) pode ser entendida como a parte viva da matéria orgânica, exceto as raízes e organismos maiores do que $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$,

com proporção média de 2 a 5% de carbono orgânico e 1 a 5% do nitrogênio total do solo (CERRI; ANDREUX; EDUARDO, 1992; DE-POLLI; GUERRA, 1997), sendo constituída por bactérias, fungos, actinomicetos, algas e protozoários. Quanto maior a BMS, maior também será a reserva de carbono no solo, expressando menor potencial de decomposição da matéria orgânica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A biomassa pode atuar como um agente de transformação da matéria orgânica, na ciclagem de nutrientes e no fluxo de energia, facilitando um maior estabelecimento e desenvolvimento de espécies vegetais que forem implantadas em uma área, pois a diversidade microbiana vai se alterando junto com o crescimento das mesmas (SMITH et al., 2001; JOHNSON; LEE; SCOW, 2003).

A determinação dos microrganismos do solo tem sido feita pela estimativa do C e N da biomassa microbiana (BENINTENDE et al., 2008). A BMS atua tanto como fonte e dreno de nutrientes e catalisadora de processos enzimáticos no solo, o que a caracteriza com uma função dupla que é aceita amplamente (TEMPLER; FINDLAY; LOVETT, 2003). Ela compreende uma fonte potencial de N, P, S e outros nutrientes para as plantas, e os fluxos através do reservatório microbiano podem ser de particular relevância no solo (DE-POLLI; GUERRA, 1999; KOUNO; WU; BROOKS, 2002)

A dinâmica da matéria orgânica é importante por influenciar na fertilidade e qualidade do solo e, conseqüentemente, sua capacidade produtiva. Esta dinâmica é regida por diversos fatores e caracterizada por transformações que dependem da biomassa microbiana do solo e resulta na disponibilidade ou indisponibilidade de nutriente às plantas (DE-POLLI; GUERRA, 1999).

Ainda que todas as propriedades física, química, biológica e bioquímica estejam envolvidas nas funções do solo, as propriedades bioquímicas e biológicas geralmente reagem mais rapidamente em curto prazo às mudanças do ambiente, por estarem ligadas diretamente ao número e atividade da biota do solo, bem como associadas com propriedades de decomposição de componentes orgânicos e ciclagem dos elementos biogeoquímicos (GREEN et al., 2007; TRASAR-CEPEDA et al., 2008), em geral usadas para estimar a qualidade do solo (DORAN, 2002; GARCIA; NAHAS, 2007). Desta forma, um solo de alta qualidade pode possuir

atividade biológica intensa com populações microbianas balanceadas (DE-POLLI; GUERRA, 1997; TÓTOLA; CHAER, 2002).

Os parâmetros bioquímicos, comumente utilizados para estimar as mudanças na qualidade do solo, compreendem as associações da biomassa microbiana do solo às atividades enzimáticas das enzimas desidrogenase, urease, fosfatase e β -glucosidase e a capacidade de mineralização do nitrogênio (GIL-SOTRES et al., 2005).

2.5 Os microrganismos e suas enzimas

Visto que a qualidade do solo é dependente de variáveis físicas, químicas, biológicas e bioquímicas, sua caracterização exige a escolha dos parâmetros mais sensíveis a mudanças que serão provocadas pelas práticas de manejo. Neste contexto, é válido desenvolver índices que aliem essas diferentes propriedades e ainda possam servir como indicadores dos principais processos do solo. Também é importante avaliar os parâmetros que forneçam indicações sobre os níveis de atividade das comunidades microbianas do solo, tais como as atividades enzimáticas, para verificar o estado metabólico das populações de microrganismos presentes no solo (LIU et al., 2014).

Os parâmetros relacionados com o estado bioquímico e microbiológico do solo são importantes indicadores da atividade microbiana no solo, principalmente a atividade de enzimas que estão diretamente relacionadas com os ciclos do N, P e C (como a protease, fosfatase e β -glucosidase, respectivamente), ou enzimas de características mais gerais, como a desidrogenase (LISBOA et al., 2012).

No solo são encontradas muitas enzimas como, oxido-redutases, transferases, hidrolases, liases dentre outras. No entanto, a maioria são desidrogenases, catalases, fosfatases, amilases, celulasas, pectinases, proteases, ureases, argininadeaminases e nitrato redutases. São principalmente de origem bacteriana ou fúngica, com uma pequena fração secretada por animais ou plantas (SINGH; KUMAR, 2008). Estas enzimas agem intra ou extracelularmente e regulam a maioria dos processos bioquímicos do solo (Tabela 1).

Tabela 1 – Principais enzimas indicadoras da qualidade do solo.

Enzimas do solo	Reação enzimática	Atividade indicadora
Desidrogenase	Sistema de transporte de elétrons	Atividade microbiana
β -glucosidase	Hidrólise de celobiose	Ciclagem de carbono
Celulase	Hidrólise de celulose	Ciclagem de carbono
Urease	Hidrólise da uréia	Ciclagem de nitrogênio
Amidase	Mineralização do N	Ciclagem do N
Fosfatase	Liberação de PO_4^-	Ciclagem do P
Arisulfatase	Liberação de SO_4^-	Ciclagem de S
FDA	Hidrólise	Atividade enzimática

Fonte: ARAÚJO; MONTEIRO (2007)

Uma maneira de se medir a atividade microbiana do solo é determinando sua atividade enzimática, que indica mudanças ocorridas na microbiota do solo, sem, entretanto, relacioná-las a algum grupo específico de organismos. Os métodos enzimáticos são representativos com relação à capacidade metabólica do solo, além de permitirem obter resultados geralmente rápidos e de baixo custo (CHAPERON; SAUVÉ, 2008).

2.5.1 Atividade enzimática da desidrogenase

A desidrogenase é uma enzima intracelular oxi-redutora que catalisa reações de compostos orgânicos. Os processos de oxidação-redução que ocorrem no solo podem ser representados por essa enzima, exibindo alta correlação com a respiração, o que pode dar idéia de metabolismo (PANDEY; SINGH, 2006). Por isso, pode refletir mudanças na população microbiana e o potencial redox do solo.

A desidrogenase é encontrada exclusivamente em células vivas, e está envolvida no processo de transporte de elétrons, que é acoplado à síntese de ATP, e que, por isso, pode ser empregada como medida da atividade biológica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por causa da sensibilidade desta enzima em responder a alterações ocorridas no solo, diversos estudos têm utilizado a atividade

da desidrogenase para verificar o efeito da adoção de diferentes práticas agrícolas sobre a biota do solo (CHU et al., 2007; MOLERO et al., 2009).

2.6 Encapsulação de microrganismos

A encapsulação de microrganismos é uma técnica que tem sido utilizada na agricultura para obter uma estrutura envolvente que permita a proteção, liberação e funcionalização dos microrganismos. De fato, a encapsulação tende a estabilizar as células, proporcionando uma menor exposição a tensões abióticas e bióticas e potencialmente a sua viabilidade e estabilidade durante a produção, armazenamento e manuseamento, ao mesmo tempo que confere uma proteção adicional durante a reidratação (SCHOEBITZ; SIMONIN; PONCELET, 2012).

A inoculação de plantas com microrganismos para aumentar o rendimento das culturas ou plantas nativas tem sido praticada há várias décadas (BASHAN et al., 2014; CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014). Dois fatores predominam no sucesso da inoculação: efetividade do isolado da bactéria e a técnica de aplicação.

A primeira formulação de encapsulamento com alginato, que é o mais comum polímero experimental na agricultura, já tem 30 anos (BASHAN, 1986). As tecnologias de encapsulamento relacionadas aos campos agrícolas estão atrasadas em relação aos avanços da área farmacêutica e da nanotecnologia. Consequentemente, o principal objetivo da encapsulação é incorporar os microrganismos promotores de crescimento em produtos comerciais e tornar-los aceitáveis para os agricultores, como uma prática rotineira. Isto deve consistir numa adaptação das técnicas às atuais necessidades agrícolas.

Os derivados de alginato $(C_6H_8O_6)_n$, frequentemente combinados com adesivos, nutrientes, surfactantes, estabilizantes, materiais de dispersão e crioprotetores, são os polímeros experimentais preferidos para a maioria das encapsulações de microrganismos para usos agrícolas e ambientais (CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014).

As formulações de alginato são utilizadas para a aplicação de agentes de controle biológico, promotores de crescimento bacteriano, fungos micorrízicos e cultivo de cogumelos. As vantagens das formulações de alginato para estes

propósitos são a sua natureza não tóxica, a biodegradabilidade, a disponibilidade a baixo custo e a liberação lenta dos microrganismos aprisionados no solo, o que pode ser conseguido por variações na estrutura polimérica (SCHOEBITZ; LÓPEZ; ROLDÁN, 2013).

Formulações do tipo encapsulado granulado ("pellets") podem ser armazenadas e, após um certo período, serem reativadas por reidratação. No caso de utilização do alginato como polímero de géis granulados, este pode proteger os microrganismos da radiação ultravioleta, aumentando a vida útil em condições de campo (SANHUEZA; MELO, 2007).

Os alginatos são sais monovalentes de ácido algínico extraídos de diferentes tipos de algas marrons. São disponíveis como sais solúveis em água, tais como: alginato de amônia, alginato de potássio e alginato de sódio; ou como sal de cálcio insolúvel em água (SANHUEZA; MELO, 2007).

Espera-se que as cápsulas sejam suficientemente pequenas, contudo ainda capazes de encapsular um número suficiente de bactérias. Sementes revestidas com fertilizantes e fungicidas já são comuns e universalmente aceitas pela maioria dos agricultores, sendo que a aplicação de formulações em esferas de micro-alginato para inocular plantas no solo tem sido bem sucedida em diversas ocasiões (BASHAN et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2014).

As áreas de alimentos, farmacologia, nanotecnologia e cosméticos representam campos de pesquisa muito maiores para o uso de encapsulamento do que seus usos em agricultura. Técnicas derivadas destes campos foram utilizadas para tornar o polímero adequado para a encapsulação de materiais biológicos. Embora estas encapsulações não estejam relacionadas com os inoculantes de plantas, podem proporcionar incentivos para desenvolvimentos futuros (CHAMPAGNE et al., 2011; MENEZES et al., 2013).

A argila é outro material que pode ser adicionado às formulações e utilizado como agente encapsulante de microrganismos, sendo uma alternativa promissora por causa da sua grande disponibilidade e custo baixo (CARNEIRO; GOMES, 1997; MESSA et al., 2016). Os minerais de argila oferecem espaço intercalar expansível que pode ser colonizado por microrganismos (PARK et al., 2013) e por isso, são reconhecidos como moléculas de proteção dos mesmos.

3. REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2016: anuário da agricultura brasileira. 21^a ed. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2016. 581 p.

ALVES, T. S.; CAMPOS, L. L.; ELIAS NETO, N.; MATSUOKA, M.; LOUREIRO, M. F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 341-347, 2011.

ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P. A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (Eds.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. cap. 2, p. 21-38.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2016. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2016. 88 p.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2017. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2017. 88 p.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-67, 2007.

AVIDANO, L.; GAMALERO, E.; COSSA, G. P.; CARRARO, E. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 21-33, 2005.

BARKA, E.A.; BELARBI, A.; HACHET, C.; NOWAK, J.; AUDRAN, J.C. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultures with plant growth-promoting rhizobacteria. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 186, p. 91-95, 2000.

BASHAN, Y. Alginate beads as synthetic inoculant carriers for the slow release of bacteria that affect plant growth. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 51, n. 5, p. 1089-1098, 1986.

BASHAN, Y.; de-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J.-P. Advances in plant growth promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 378, n. 1, p. 1-33, 2014.

BASHAN, Y.; HERNANDEZ, J.-P.; LEYVA, L. A.; BACILIO, M. Alginate microbeads as inoculant carrier for plant growth-promoting bacteria. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 35, n. 5, p. 359-368, 2002.

BENINTENDE, S. M.; BENINTENDE, M. C.; STERREN, M. A.; BATTISTA, J. J. Soil microbiological indicators of soil quality in four rice rotations systems. **Ecological Indicators**, Amsterdam, v. 8, p. 704-708, 2008.

BERNARDES, F. S.; PATRICIO, F. R. A.; SANTOS, A. S.; FREITAS, S. S. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias em cultivos hidropônicos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 115-121, 2010.

BRAGA JUNIOR, J. M.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, E. U. Emergência de plântulas de *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae) em função de substratos. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 4, p. 609-616, 2010.

BROUGHTON, L. C.; GROSS, K. L. Patterns of diversity in plant and soil microbial communities along a productivity gradient in a Michigan old-field. **Oecologia**, New York, v. 125, n. 3, p. 420-427, 2000.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 383, n. 1, p. 3-4, 2014.

CAPUANI, S.; RIGON, J. P. G.; BELTRÃO, N. E. M.; BRITO NETO, J. F. Atividade microbiana em solos, influenciada por resíduos de algodão e torta de mamona. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 6, n. 12, p. 1269-1274, 2012.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANTUNES, V.; SILVEIRA, A. P. D.; OLIVEIRA, M. H. A. Eficiência de FMVA em porta-enxertos de citros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 10, p. 25-30, 1986.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C.. Fósforo e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no estabelecimento de mudas de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 3, p. 119-125, 2004.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Encapsulação do fungo *Paecilomyces lilacinus* em matrizes de alginato-argila e avaliação da viabilidade dos conídios em duas temperaturas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 2, p. 85-92, 1997.

CATTELAN, A. J. **Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 139).

CERRI, C. C.; ANDREUX, F.; EDUARDO, B. P. O ciclo do carbono no solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAL, S. M.; NEVES, M. C. P. (Coords). **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 73-90.

CHAMPAGNE, C. P.; ROSS, R. P.; SAARELA, M.; HANSEN, K. F.; CHARALAMPOPOULOS, D. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 149, n. 3, p. 185-193, 2011.

CHANWAY, C. P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JUNGWIRTH, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G.; HOLL, F. G. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 133, p. 81-88, 2000.

CHAPERON, S.; SAUVÉ, S. Toxicity interactions of cadmium, copper, and lead on soil uréase and dehydrogenase activity in relation to chemical speciation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, San Diego, v. 70, n. 1, p. 1-9, 2008.

CHEN, C.; BÉLANGER, R. R.; BENHAMOU, N.; PAULITZ, T. C. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Londres, v. 56, n. 1, p. 13-23, 2000.

CHU, H.; LIN, X.; FUJII, T.; MORIMOTO, S.; YAGI, K.; HU, J.; ZHANG, J. Soil microbial biomass, dehydrogenase activity, bacterial community structure in response to long-term fertilizer management. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 2971-2976, 2007.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M. **Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo: método de fumigação-extração**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1997, 10 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 37).

DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M. C. N e P na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999, p. 389-412.

DONATE-CORREA, J.; LEON-BARRIOS, M.; PEREZ-GALDONA, R. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Islands. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 266, n. 1-2, p. 261-272, 2004.

DORAN, J. W. Soil health and sustainability: Translating science into practice. **Agriculture Ecosystems Environment**, Amsterdam, v. 88, p. 119-127, 2002.

FREITAS, S. S. Desenvolvimento de plântulas de café pela inoculação de *Pseudomonas* sp. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 13, p. 31-34, 1989.

FREITAS, S. S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p. 1-20.

FREITAS, S. S.; MELLO, A. M. T.; DONZELI, V. P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 61-70, 2003.

FREITAS, S. S.; PIZZINATTO, M. A. Interações de *Pseudomonas* sp. E *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* na rizosfera de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 17, p. 105-112, 1991.

FREITAS, S. S.; VILDOSO, C. I. A. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v. 28, n. 6, p. 987-994. 2004.

GARCIA, M. R. L.; NAHAS, E. Biomassa e atividade microbiana de solo pastejado por diferentes lotações de ovinos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 269-276, 2007.

GIL-SOTRES, F.; TESAR-CEPEDA, C; LEIRÓS, M. C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, p. 877-887, 2005.

GREEN, V. S.; STOTT, D. E.; CRUZ, J. C.; CURI, N. Tillage impacts on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 92, p. 114–121, 2007.

HAN, J.; SUN, L.; DONG, X.; CAI, Z.; SUN, X.; YANG, H.; WANG, Y.; SONG, W. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various pathogens. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 28, p. 66-76, 2005.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. **Plant Propagation: Principles and Practices**. 8. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2010. 928 p.

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, New York, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.

HOLANDA, A. C.; FELICIANO, A. L. P.; MARANGON, L. C.; FREIRE, F. J.; HOLANDA, E. M. Decomposição da serapilheira foliar e respiração edáfica em um remanescente de caatinga na Paraíba. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 39, n. 2, p. 245-254, 2015.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense***: inoculação em rendimento e baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Documentos / Embrapa Soja ISSN 1516-781X; n. 325)

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes. Rio de Janeiro, v. 43, p. 1-62, 2016.

JOHNSON, M. J.; LEE, K. Y.; SCOW, K. M. DNA fingerprint reveals links among agricultural crops, soil properties, and the composition of soil microbial communities. **Geoderma**, Amsterdam, v. 114, n. 3-4, p. 279-303, 2003.

KOUNO, K.; WU, J.; BROOKS, P. C. Turnover of biomass C and P in soil following incorporation of glucose or ryegrass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 5, p. 617-622, 2002.

LISBOA, B. B.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, A. O. da; MARTINS, A. F.; SELBACH, P. A. Indicadores microbianos de qualidade do solo em diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 1, p. 33-44, 2012.

LIU, K.; GARRETT, C.; FADAMIRO, H.; KLOEPPER, J. W. Antagonism of black rot in cabbage by mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **BioControl**, Dordrecht, v. 61, n. 5, p. 605-613, 2016.

LIU, K.; NEWMAN, M.; MCINROY, J. A.; HU, C. H.; KLOEPPER, J. W. Selection and assessment of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for biological control of multiple plant diseases. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 107, n. 8, p. 928-936, 2017.

LIU, Y.; YANG, H.; LI, X.; XING, Z. Effects of biological soil crusts on soil enzyme activities in revegetated areas of the Tengger Desert, China. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 80, p. 6-14, 2014.

LUZ, W. C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 597-600, 2001.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura

sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 1, p. 89-111, 2004.

MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; CHICOSKI, A. J.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 7, p. 1309-1316, 2013.

MESSA, L. L.; FROES, J. D.; SOUZA, C. F.; FAEZ, R. Híbridos de quitosana-argila para encapsulamento e liberação sustentada do fertilizante nitrato de potássio. **Química Nova**, São Paulo, v. 39, n. 10, p. 1215-1220, 2016.

MOLERO, S.; LÓPEZ-GARRIDO, R.; MURILLO, J. M. MORENO, F. Conservation tillage: Short- and long-term effects on soil carbon fractions and enzymatic activities under Mediterranean conditions. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 104, p. 292-298, 2009.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Ed. da UFLA, 2006.

OLIVEIRA, J. L.; CAMPOS, E. V. R.; BAKSHI, M.; ABHILASH, P. C.; FRACETO, L. F. Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: prospects and promises. **Biotechnology advances**, Oxford, v. 32, n. 8, p. 1550-1561, 2014.

PANDEY, S.; SINGH, K. D. Soil dehydrogenase, phosphomonoesterase and arginine deaminase activities in an insecticide treated groundnut (*Arachis hypogaea* L.) field. **Chemosphere**, Oxford, v. 63, n. 5, p. 869-880, 2006.

PARK, D. H.; HWANG, S. J.; OH, J. M.; YANG, J. H.; CHOY, J. H. Polymer–inorganic supramolecular nanohybrids for red, white, green, and blue applications. **Progress in Polymer Science**, Oxford, v. 38, n. 10, p. 1442-1486, 2013.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 17, n. 4-5, p. 319-339, 1999.

ROS, C. O.; REX, F. E.; RIBEIRO, I. R.; KAFER, P. S.; RODRIGUES, A. C.; SILVA, R. F.; SOMAVILLA, L. Uso de substrato compostado na produção de mudas de *Eucalyptus dunnii* e *Cordia trichotoma*. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 22, n. 4, p. 549-558, 2015.

RUANO-ROSA, D.; CAZORLA, F. M.; BONILLA, N.; MARTÍN-PÉREZ, R.; DE VICENTE, A.; LÓPEZ-HERRERA, C. J. Biological control of avocado white root rot with combined applications of *Trichoderma* spp. and rhizobacteria. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 138, n. 4, p. 751-762, 2014.

SANHUEZA, R. M. V.; MELO, I. S. Encapsulamento de microrganismos. In: _____. (Ed.). **Métodos usados no biocontrole de fitopatógenos**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 103-107, 2007.

SCHOEBITZ, M.; LÓPEZ, M.; ROLDÁN, A. Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil-plant fertilization: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 33, n. 4, p. 751-765, 2013.

SCHOEBITZ, M.; SIMONIN, H.; PONCELET, D. Starch filler and osmoprotectants improve the survival of rhizobacteria in dried alginate beads. **Journal of Microencapsulation**, Abingdon, v. 29, n. 6, p. 532-538, 2012.

SILVA, E. A.; OLIVEIRA, A. C.; MENDONÇA, V.; SOARES, F. M. Substratos na produção de mudas de mangabeira em tubetes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 2, 2011.

SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S.; SILVA, L. R. C.; LOMBARDI, M. L. C. O.; CARDOSO, E. J. B. N. Interações de micorrizas arbusculares e rizobactérias promotoras do crescimento em plantas de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 19, p. 205-211, 1995.

SINGH, D. K.; KUMAR, S. Nitrate reductase, arginine deaminase, urease and dehydrogenase activities in natural soil (ridges with forest) and in cotton soil after acetamiprid treatments. **Chemosphere**, Oxford, v. 71, n. 3, p. 412-418, 2008.

SINGH, J. S.; PANDEY, V. C.; SINGH, D. P. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 140, p. 339-353, 2011.

SMIT, E.; LEEFLANG, P; GOMMANS, S.; VAN DEN BROEK, J; VAN, M. S.; WERNARS, K. Diversity and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 5, p. 2284-2291, 2001.

SOUZA, E. R. B.; CARNEIRO, I. F.; NAVES, R. V.; BORGES, J. D.; LEANDRO, W. M.; CHAVES, L. J. Emergência e crescimento de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) em função do tipo e do volume de substratos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 31, n. 2, p. 89-95, 2001.

SOUZA, G. L. O. D.; SILVA, D. F.; NIETSCH, S.; XAVIER, A. A.; PEREIRA, M. C. T. Endophytic bacteria used as bioinoculants in micropropagated banana seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 39, n. 2, e-324, 2017.

STURZ, A. V.; NOWAK, J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, n. 2, p. 183-190, 2000.

TEMPLER, P.; FINDLAY, S.; LOVETT, G. Soil microbial biomass and nitrogen transformations among five tree species of the Catskill Mountains, New York, USA. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 35, n. 4, p. 607-613, 2003.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores de qualidade dos solos. **Tópicos em Ciência do solo**, Viçosa, v. 2, p. 200-201, 2002.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; SEOANE S.; GIL-SOTRES, F. Biochemical properties of soil under crop rotation. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 39, n. 2, p. 133- 143, 2008.

VEMMER, M.; PATEL, A. V. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. **Biological Control**, San Diego, v. 67, n. 3, p. 380-389, 2013.

VEZZANI, F. M.; MIELNICZUK, J. Uma visão sobre qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 743-755, 2009.

VIKETOFT, M.; PALMBORG, C.; SOHLENIUS, B.; HUSS-DANEL, K.; BENGTSSON, J. Plant species effects on soil nematode communities in experimental. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 30, n. 2, p. 90-103, 2005.

ZAIDI, A.; AHMAD, E.; KHAN, M. S.; SAIF, S.; RIZVI, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: current perspective. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 193, p. 231-239, 2015.

ZIETEMANN, C.; ROBERTO, S. R. Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 137-142, 2007.

CAPÍTULO 2 – Promoção do crescimento de mudas frutíferas por meio de microrganismos encapsulados

RESUMO – A utilização de microrganismos capazes de promover o crescimento vegetal tem sido aceita como alternativa a redução do uso de adubos químicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas em substrato utilizado para mudas de espécies frutíferas, usando dois agentes encapsulantes, argila e alginato de sódio. O inóculo microbiano continha as seguintes espécies: *Azospirillum brasilense*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Trichoderma* spp. e Isolado 411. As espécies frutíferas avaliadas foram: *Myrciaria cauliflora* (DC.) O. Berg (jabuticaba); *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral (cabeludinha); *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh (camu-camu); *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixama); *Diospyros kaki* L. (caqui); *Garcinia brasiliensis* Mart. (bacupari); *Annona muricata* L. (graviola); *Duguetia lanceolata* A. St. – Hil. (pindaíba); *Chrysophyllum cainito* L. (caimito); *Anacardium occidentale* L. (caju); *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. (nêspera) e *Litchi chinensis* Sonn. (lichia). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 (controle, alginato de sódio e argila) x 2 (presença e ausência de inóculo microbiano) com cinco repetições (uma muda por repetição). Foi avaliada a altura da planta, diâmetro do colo, massa seca da parte aérea e de raiz. Para a espécie *M. dubia* o diâmetro do caule foi maior quando não se utilizou os microrganismos promotores de crescimento, sejam eles encapsulados ou não. Microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP), independente do encapsulamento utilizado, promovem maior crescimento das mudas de caimito (altura, diâmetro do caule e massa seca de raiz) e de lichia (diâmetro do caule e massa seca da planta).

Palavras-chave: Propagação de frutíferas, encapsulamento, inóculo microbiano, substrato.

ABSTRACT - The use of microorganisms capable of promoting plant growth has been accepted as an alternative to reducing the use of chemical fertilizers. The

objective of this study was to evaluate the inoculation of plant growth promoter microorganisms in substrate used for fruit tree seedlings using two encapsulating agents, clay and sodium alginate. The microbial inoculums contained the species: *Azospirillum brasilense*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Tricoderma* spp. and Isolado 411. The fruit species evaluated were: *Myrciaria cauliflora* (DC.) O. Berg; *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral; *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh; *Eugenia brasiliensis* Lam.; *Diospyros kaki* L.; *Garcinia brasiliensis* Mart.; *Annona muricata* L.; *Duguetia lanceolata* A. St. – Hil.; *Chrysophyllum cainito* L.; *Anacardium occidentale* L.; *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. and *Litchi chinensis* Sonn. The experimental design was completely randomized, in a factorial scheme 3 (control, sodium alginate and clay) x 2 (presence and absence of microbial inoculum) with five replicates (one seedling per replicate). Was evaluated plant height, diameter, root shoot and stem dry shoot. For the *M. dubia* species the diameter of the stem was higher when the growth promoting microorganisms, whether encapsulated or not, were not used. Plant growth promoting microorganisms (PGPM), regardless of the encapsulation used, promote greater growth of the caimito (height, root diameter and root dry mass) and lychee (stem diameter and dry plant mass) seedlings.

Keywords: Fruit propagation, encapsulation, microbial inoculum, potting mix.

1. INTRODUÇÃO

A produção de mudas frutíferas sofre influência de fatores climáticos e edáficos, e.g. luz, temperatura, troca de gases, água, umidade, substrato e nutrição, e bióticos, como patógenos, pragas e micróbios da rizosfera (HARTMANN et al., 2010).

Em relação ao substrato, este deve ser denso e firme, altamente decomposto e estável, suficientemente poroso para drenar o excesso de água, livre de pragas e doenças, apresentar baixa salinidade, ser capaz de ser pasteurizado ou tratado quimicamente, ter alta capacidade de troca de cátions (CTC), reter nutrientes e ser de fácil disponibilidade (HARTMANN et al., 2010). Além disso, os fatores bióticos,

e.g. micróbios da rizosfera, micorrizas e/ou bactérias, podem influenciar o desenvolvimento das mudas, sendo que as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) exercem efeitos benéficos ao estimular, por exemplo, a fixação de nitrogênio (HAN et al., 2005), a solubilização de nutrientes (MAJEED et al., 2015), a produção de reguladores vegetais (DONATE-CORREA et al., 2004) e o aumento da capacidade de absorção das raízes (SINGH; PANDEY; SING, 2011).

Indiretamente, as BPCP atuam como agentes de controle biológico contra patógenos presentes no substrato (BARKA et al., 2000), possivelmente pela produção de ácido cianídrico, bactericidas e antibióticos, pela competição por espaço, liberação de Fe^{+3} e outros nutrientes, parasitismo, indução de resistência e proteção cruzada (FREITAS; PIZZINATTO, 1991; BERNARDES et al., 2010).

Em relação às espécies de BPCP, o gênero *Azospirillum* possui várias espécies de bactérias que crescem amplamente na rizosfera de gramíneas e, após serem isoladas e utilizadas na produção vegetal, apresentaram respostas positivas sobre a produtividade e na fixação biológica de nitrogênio (FBN) (JAMES, 2000; HAUWAERTS et al., 2002; RAMOS et al., 2002; FISCHER et al. 2007). A *Burkholderia cepacia* é outra importante bactéria no processo de FBN (WONG-VILLARREAL; CABALLERO-MELLADO, 2010). Isolados epifíticos de *Bacillus* tem apresentado efeitos satisfatórios quando utilizados como agentes de biocontrole e na promoção do crescimento de plantas, em destaque estão os isolados *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. cereus* (LUNA et al., 2002) e *B. thuringiensis* (GOMES et al., 2003). Entre os fungos, *Trichoderma* spp. se destacam como agente de biocontrole (HARMAN, 2006) e também na promoção de crescimento de plantas (NIETO-JACOBO et al., 2017).

Uma das formas de se incorporar as BPCP aos substratos seria utilizando a encapsulação em materiais sólidos, líquidos e gasosos em pequenas cápsulas que liberam seu conteúdo sob condições controladas. A encapsulação é importante para a manutenção da estabilidade dos microrganismos e para aumentar a resistência das bactérias no substrato. Dentre os muitos tipos de materiais encapsulantes, o alginato de cálcio e de sódio, bem como as proteínas do soro do leite e gomas têm sido os mais utilizados (SCHOEBITZ et al., 2013; VEMMER; PATEL, 2013). A argila é outro material que pode ser adicionado às formulações e utilizado como agente

encapsulante de microrganismos, sendo uma alternativa promissora por causa da sua grande disponibilidade e custo baixo (CARNEIRO; GOMES, 1997; MESSA et al., 2016). Os minerais de argila oferecem espaço intercalar expansível que pode ser colonizado por microrganismos (PARK et al., 2013) e por isso, são reconhecidos como moléculas de proteção dos mesmos.

Como a inoculação isolada ou combinada de microrganismos pode se constituir em uma ferramenta biotecnológica de interesse na produção de mudas de espécies frutíferas, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) em substrato utilizado para mudas de espécies frutíferas, usando dois agentes encapsulantes, argila e alginato de sódio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido entre 16 de março e 16 de junho de 2015 (90 dias) no Ripado de Fruticultura do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP-FCAV), Câmpus de Jaboticabal-SP, (21°14'05 de Latitude Sul, 48°17'09" de Longitude Oeste e altitude de 590m). O clima da região, segundo a classificação de Köppen é Cwa, apresentando uma temperatura média anual de 22 °C. Os dados climáticos observados no período encontram-se na Figura 1.

O inóculo utilizado continha as seguintes espécies de microrganismos: *Azospirillum brasilense*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp. e Isolado 411. Todos os microrganismos fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal.

Os microrganismos cresceram separadamente em caldo nutritivo por sete dias em frascos mantidos em B.O.D. (Eletrolab, modelo 347 F, Brasil), à temperatura de 25 °C. Após o período de incubação, os microrganismos foram centrifugados separadamente a 10.000 rpm durante 10 min a 28 °C (Novatecnica, modelo MLW K24, Brasil). A concentração do inóculo foi padronizada conforme recomendação de Barry e Thornsberry (1991) e Sahm e Washington II (1991) em 1×10^7 UFC mL⁻¹,

com auxílio de espectrofotômetro (Micronal, modelo B382, Brasil) na absorvância de 695 nm.

A cada solução de microrganismos foi adicionada uma solução de alginato de sódio ($\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) na concentração de 1% (m/v). As soluções de microrganismos acrescidas de alginato de sódio foram gotejadas em solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) 0,1 M, dando origem às esferas com o inóculo microbiano (SHEU; MARSHALL, 1993; SULTANA et al., 2000). A seguir, as esferas foram lavadas com água destilada, com auxílio de uma peneira, submetidas ao processo de secagem em câmara de fluxo laminar por um período de seis horas e armazenadas em temperatura ambiente (17 – 28 °C). Para cada 1 mL de solução de um microrganismo foram originada 12 esferas. Como em cada vaso foram aplicados oito microrganismos diferentes, conseqüentemente, cada vaso recebeu 96 esferas microbianas no total, que foram incorporadas ao substrato em um orifício de aproximadamente 10 cm de profundidade, a fim de se garantir maior proximidade do material depositado no substrato com as raízes das mudas. Para o tratamento que continha o alginato, este recebeu apenas as esferas de alginato de sódio sem a presença do inóculo microbiano, sendo adicionadas 96 esferas por vaso.

Visando a inoculação dos microrganismos com a argila, foi preparada uma suspensão que continha 1 mL de cada microrganismo para 1 mL de argila na diluição de 1:3 (m/v) de água destilada (adaptado CARNEIRO; GOMES, 1997). Cada vaso recebeu, no total, 8 mL de inóculo microbiano adicionado a 8 mL de argila, que foram incorporados ao substrato em um orifício de aproximadamente 10 cm de profundidade, totalizando 16 mL por vaso. Para o tratamento que continha somente argila, realizou-se o mesmo procedimento, excluindo apenas a adição do inóculo microbiano.

Todas as mudas das espécies frutíferas estudadas foram originadas de sementes obtidas de plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasma da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal. Os microrganismos foram inoculados nos substratos onde as mudas das seguintes espécies frutíferas estavam sendo conduzidas: *Myrciaria cauliflora* (DC.) O. Berg (jaboticaba); *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral (cabeludinha); *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh (camu-camu); *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixama); *Diospyros kaki* L. (caqui); *Garcinia*

brasiliensis Mart. (bacupari); *Annona muricata* L. (graviola); *Duguetia lanceolata* A. St. – Hil. (pindaíba); *Chrysophyllum cainito* L. (caimito); *Anacardium occidentale* L. (caju); *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. (nêspera) e *Litchi chinensis* Sonn. (lichia).

O substrato utilizado foi composto de uma mistura de terra, areia e esterco bovino na proporção de 3:1:1 (v/v/v), disposto em sacos de polietileno (22x11 cm). A irrigação foi manual, diária, conforme monitoramento da umidade do substrato. As mudas foram mantidas sob telado com 50% de luminosidade, por um período de 90 dias. Durante o experimento, a temperatura mínima foi de 17°C e a máxima de 28°C (Figura 1).

As mudas selecionadas para este experimento foram padronizadas, por espécie, em função da altura e diâmetro do caule antes da inoculação. Ao final dos 90 dias, estas foram avaliadas quanto: altura da planta (cm), medindo-se da base até o ápice da planta; diâmetro do caule (mm), na região do colo com auxílio de paquímetro digital; massa seca da parte aérea (g) e massa seca da raiz (g) (65 °C, 72 h), de acordo com o descrito por Souza et al. (2003).

Em função dos distintos padrões de crescimento de cada espécie frutífera, não foi realizada a análise estatística comparando os resultados entre as espécies. Desta forma, para cada espécie frutífera, separadamente, foi adotado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 (controle, alginato de sódio e argila) x 2 (presença e ausência de inóculo microbiano) com cinco repetições (uma muda por repetição), totalizando 30 plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando-se o Software AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2009).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado efeito significativo ($p < 0,01$) dos microrganismos promotores de crescimento apenas para a altura de plantas da espécie *C. cainito* L. (caimito) no fator encapsulamento (Tabela 1). Para esta espécie, uma maior altura de plantas foi atingida quando os microrganismos foram inoculados com argila, porém sem diferir do controle (Tabela 1). A inoculação com alginato de sódio diminuiu a altura de

plantas. Para as demais espécies, não foram observadas diferenças significativas para a altura de planta, indicando que os microrganismos não influenciaram o crescimento das mudas, independente do tipo de encapsulamento (em argila ou alginato de sódio), durante 90 dias de cultivo.

Spassin et al. (2016) relataram que isolados bacterianos podem apresentar efeitos benéficos ou não em relação à sobrevivência e ao enraizamento de *Eucalyptus dunnii* (Myrtaceae), o que levanta a hipótese de que o estabelecimento dos microrganismos promotores de crescimento e sua associação à espécie vegetal podem variar de acordo com a espécie em questão, manejo e, possivelmente, quanto ao local de estudo. Por outro lado, Salla et al. (2014) concluíram que a utilização de MPCP (rizobactérias *Streptomyces* PM9) resultou na maior produção de ácido indolacético e um melhor potencial para indução de raízes, bem como nos níveis de compostos fenólicos e flavonóides envolvidos no mecanismo de defesa de plantas de *E. grandis* e *E. globulus*. Estes autores relataram ainda que houve alteração no metabolismo secundário, sugerindo resposta sistêmica induzida, indicando seu potencial uso como controle biológico na silvicultura.

Ao se fazer o desdobramento da variável altura para a espécie caimito, foi observado que o encapsulamento com argila foi superior ao com alginato de sódio, pois este não diferiu estatisticamente do controle (Tabela 2). Foi observado também menor crescimento das mudas não tratadas (controle) quando comparadas aos demais tratamentos (Tabela 2), sugerindo que o uso dos microrganismos promoveu o desenvolvimento das mudas de caimito. Assim, pode-se inferir que as associações de comunidades bacterianas associadas à rizosfera de espécies frutíferas são hospedeiras dependentes do táxon, ou seja, da espécie em si, como concluíram Lambais et al. (2014), que ao estudar a rizosfera de espécies arbóreas da mata atlântica, mostraram que as comunidades bacterianas associadas às árvores foram específicas aos hospedeiros das plantas.

Em relação ao diâmetro do caule, foi observado efeito significativo ($p < 0,01$) para as mudas de *M. dubia* (Kunth) Mc Vaugh (camu-camu). Para essa espécie, o diâmetro do caule foi maior quando não se utilizou os microrganismos promotores de crescimento, sejam eles encapsulados ou não (Tabela 3). Isto pode ocorrer quando os microrganismos utilizados apresentam alguma incompatibilidade com a

microbiota nativa associada à rizosfera da planta, o que vai gerar competição entre eles, alterando os efeitos positivos do microrganismo-alvo e, consequentemente, um não desenvolvimento adequado para as mudas. Outra possível causa desse resultado se refere à colonização radicular variável, por problemas de sobrevivência do inóculo ou por condições desfavoráveis para os microrganismos, pois se estes não puderem colonizar a rizosfera, não terão como interagir com a planta (FREITAS, 2007). Entretanto, para as espécies *C. cainito* L. (caimito) e *L. chinensis* Sonn. (lichia) ocorreu o contrário, ou seja, em ambas foi observado maior diâmetro do caule quando as mudas foram inoculadas com os microrganismos (Tabela 3). Esse resultado reafirma o observado para a variável altura de plantas, que as alterações no crescimento das plantas podem estar relacionadas com a interação entre os microrganismos e a rizosfera.

Uma possível explicação para este fato é que os micro-organismos do solo encontrados na zona da raiz afetam o crescimento e desenvolvimento vegetal, mas o potencial para aproveitar esses benefícios depende da abundância e diversidade dos indivíduos que influenciam os efeitos benéficos para a planta (PANKE-BUISSE et al., 2015). Além disso, a mesma espécie vegetal pode estimular comunidades microbianas diversas entre um local e outro, o que leva a respostas diferentes à inoculação de um mesmo isolado promotor de crescimento (CHANWAY et al., 2000). Adicionalmente, pode-se considerar que a variabilidade genética nas mudas propagadas por semente possa ser um fator de diferenciação do crescimento das plantas (HARTMANN et al., 2010).

As mudas de lichieira apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) no teor de massa seca (MS) da parte aérea das plantas com a presença dos microrganismos, independente se estavam encapsuladas ou não (Tabela 4). Esse resultado sugere que pode ter ocorrido uma associação com a rizosfera das mudas de lichia, que promoveu melhor estabelecimento dos microrganismos e, consequentemente, levou a um maior diâmetro de caule, possivelmente em função do teor mais elevado de MS.

A massa seca da raiz foi significativamente diferente apenas nas mudas de caimito tratadas com os microrganismos promotores de crescimento (Tabela 5).

Nessa espécie, o acúmulo de MS da raiz foi maior quando o substrato foi inoculado com os microrganismos, independente do tipo de encapsulante utilizado.

Silva et al. (2006), ao avaliarem onze isolados dos gêneros *Acremonium* (GFR6 e GRR1), *Colletotrichum* (GFR4 e PFR4), *Phomopsis* (PFR3 e GCR4), *Cylindrocladium* (GRR4), *Chaetomium* (GRR7) e *Fusarium* (GRR5, PRR1 e PRR6) relataram efeitos desses microrganismos nos parâmetros de crescimento de mudas de pinha (*Annona squamosa* L.) e graviola (*Annona muricata* L.), sendo observado aumento na massa seca da parte aérea de mudas de pinha entre 23,2 a 32,7%, porém nenhum isolado afetou a massa seca da raiz, semelhante ao observado neste estudo. Estes mesmos autores relataram que 20 isolados apresentaram efeito negativo sobre a massa seca das raízes das mudas de pinha, e observaram que em tecidos aparentemente sadios de pinha e graviola foram encontrados alguns fungos que poderiam promover o crescimento da parte aérea, mas também alguns que poderiam reduzir o crescimento da raiz e outros que não afetariam o crescimento das mudas de pinha. Outra observação interessante é que os isolados que promoveram o crescimento das mudas de pinha foram provenientes da graviola, evidenciando que isolados de um hospedeiro podem facilmente colonizar hospedeiros de espécies diferentes, até mesmo com maior intensidade (SILVA et al., 2006). Estas características podem estar associadas à eficiência de colonização da raiz pelos microrganismos, já que a exsudação de diferentes compostos atrai diferentes populações microbianas (SOUZA et al., 2015).

4. CONCLUSÃO

Microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP), independente do encapsulamento utilizado, promovem maior crescimento das mudas de caimito (altura, diâmetro do caule e massa seca de raiz) e de lichia (diâmetro do caule e massa seca da planta).

5. REFERÊNCIAS

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **Software AgroEstat**: Sistema de análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 2009.

BARKA, E. A.; BELARBI, A.; HACHET, C.; NOWAK, J.; AUDRAN, J. C. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultures with plant growth-promoting rhizobacteria. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 186, p. 91-95, 2000.

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures. In: BALOWS, A.; HAUSER, W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHAMODY, H. J. **Manual of clinical microbiology**. 5. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991. p. 1117-1125.

BERNARDES, F. S.; PATRICIO, F. R. A.; SANTOS, A. S.; FREITAS, S. S. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias em cultivos hidropônicos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 115-121, 2010.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Encapsulação do fungo *Paecilomyces lilacinus* em matrizes de alginato-argila e avaliação da viabilidade dos conídios em duas temperaturas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 2, p. 85-92, 1997.

CHANWAY, C. P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JUNGWIRTH, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G.; HOLL, F. G. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 133, p. 81-88, 2000.

DONATE-CORREA, J.; LEON-BARRIOS, M.; PEREZ-GALDONA, R. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a

forage tree-shrub legume endemic to the Canary Islands. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 266, n. 1-2, p. 261-272, 2004.

FISCHER, S. E.; FISCHER, S. I.; MAGRIS, S.; MORI, G. B. Isolation and characterization of bacteria from the rhizosphere of wheat. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 23, n. 7, p. 895-903, 2007.

FREITAS, S. S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p. 1-20.

FREITAS, S. S.; PIZZINATTO, M. A. Interações de *Pseudomonas* sp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* na rizosfera de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 17, p. 105-112, 1991.

GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; MESQUITA, J. C. P. Isolamento, seleção de bactérias e efeito de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 699-703, 2003.

HAN, J.; SUN, L.; DONG, X.; CAI, Z.; SUN, X.; YANG, H.; WANG, Y.; SONG, W. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various pathogens. **Systematic and Applied Microbiology**, Jena, v. 28, p. 66-76, 2005.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. **Plant Propagation: Principles and Practices**. 8. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2010. 928 p.

HAUWAERTS, D.; ALEXANDRE, G.; DAS, S. K.; VANDERLEYDEN, J.; ZHULIN, I. B. A major chemotaxis gene cluster in *Azospirillum brasilense* and relationships between chemotaxis operons in α -proteobacteria. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 208, n. 1, p. 61-67, 2002.

JAMES, E. K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2-3, p. 197-209, 2000.

LAMBAIS, M. R.; LUCHETA, A. R.; CROWLEY, D. E. Bacterial community assemblages associated with the phyllosphere, dermosphere, and rhizosphere of tree species of the Atlantic forest are host taxon dependent. **Microbial Ecology**. New York, v. 68, n. 3, p. 567–574, 2014.

LUNA, C. L.; MARIANO, R. L. R.; SOUTO-MAIOR, A. M. Production of a biocontrol agent for crucifers black rot disease. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 133-140, 2002.

MAJEED, A.; ABBASI, M. K.; HAMEED, S.; IMRAN, A.; RAHIM, N. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. **Frontiers in Microbiology**. Lausanne, v. 6, e-198, p. 1-10, 2015.

MESSA, L. L.; FROES, J. D.; SOUZA, C. F.; FAEZ, R. Híbridos de quitosana-argila para encapsulamento e liberação sustentada do fertilizante nitrato de potássio. **Química Nova**, São Paulo, v. 39, n. 10, p. 1215-1220, 2016.

NIETO-JACOBO, M. F.; STEYAERT, J. M.; SALAZAR-BADILLO, F. B.; NGUYEN, D. V.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; SOUZA, J. T.; JIMENEZ-BREMONT, J. F.; OHKURA, M.; STEWART, A.; MENDOZA-MENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic

compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, e-102, p. 1-18, 2017.

PANKE-BUISSE, K.; POOLE, A. C.; GOODRICH, J. K.; LEY, R. E.; KAO-KNIFFIN, J. Selection on soil microbiomes reveals reproducible impacts on plant function. **The ISME Journal**, London, v. 9, n. 4, p. 980–989, 2015.

PARK, D. H.; HWANG, S. J.; OH, J. M.; YANG, J. H.; CHOY, J. H. Polymer–inorganic supramolecular nanohybrids for red, white, green, and blue applications. **Progress in Polymer Science**, Oxford, v. 38, n. 10, p. 1442-1486, 2013.

RAMOS, H. J.; RONCATO-MACCARI, L. D.; SOUZA, E. M.; SOARES-RAMOS, J. R.; HUNGRIA, M.; PEDROSA, F. O. Monitoring *Azospirillum*-wheat interactions using the gfp and gusA genes constitutively expressed from a new broad-host range vector. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 97, n. 3, p. 243-252, 2002.

SAHM, D. F., WASHINGTON II, J. A. Antibacterial susceptibility tests: dilution methods. In: BALOWS, A.; HAUSER, W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHAMODY, H. J. **Manual of clinical microbiology**. 5. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991. p. 1105-1116.

SALLA, T. D.; SILVA, T. R.; ASTARITA, L. V.; SANTARÉM, E. R. *Streptomyces* rhizobacteria modulate the secondary metabolism of *Eucalyptus* plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 85, p. 14-20, 2014.

SCHOEBITZ, M.; LÓPEZ, M.; ROLDÁN, A. Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 33, n. 4, p. 751-765, 2013.

SHEU, T. Y.; MARSHALL, R. T. Micro-encapsulation of Lactobacilli in calcium alginate gels. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 54, n. 3, p. 557–561, 1993.

SILVA, R. L. de O.; LUZ, J. S.; SILVEIRA, E. B. da; CAVALCANTE, U. M. T.. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 20, n. 3, p. 649-655, 2006.

SINGH, J. S.; PANDEY, V. C.; SINGH, D. P. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 140, p. 339-353, 2011.

SOUZA, C. A. S.; CORRÊA, F. L. O.; MENDONÇA, V.; CARVALHO, J. G. Crescimento de mudas de gravioleira (*Annona muricata* L.) em substrato com superfosfato simples e vermicomposto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 453-456, 2003.

SOUZA, R. de; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 4, p. 401-419, 2015.

SPASSIN, A. C.; VANDRESEN, P. B.; NEVES, D.; GARCIA, F. A. O.; UKAN, D. PERES, F. S. B. Promoção do crescimento e enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus dunnii* por rizobactérias e bactérias do filoplano. **Floresta**, Curitiba, v. 46, n. 3, p. 387-395, 2016.

SULTANA, K.; GODWARD, G.; REYNOLDS, N.; ARUMUGASWAMY, R.; PEIRIS, P.; KAILASAPATHY, K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 62, n. 1-2, p. 47-55, 2000.

VEMMER, M.; PATEL, A. V. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. **Biological Control**, San Diego, v. 67, n. 3, p. 380-389, 2013.

WONG-VILLARREAL, A.; CABALLERO-MELLADO, J. Rapid identification of nitrogen-fixing and legume-nodulating *Burkholderia* species based on PCR 16S rRNA species-specific oligonucleotides. **Systematic and Applied Microbiology**, Jena, v. 33, p. 35–43, 2010.

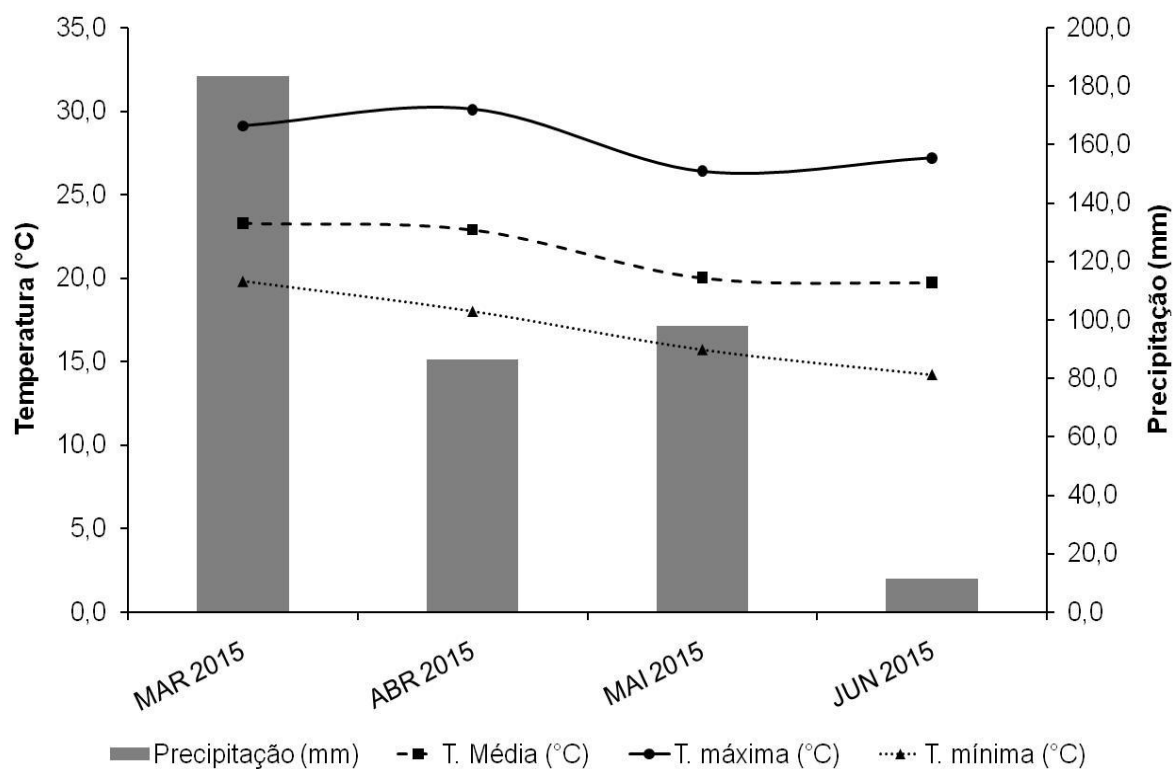


Figura 1. Precipitação pluviométrica e temperaturas média, máxima e mínima do ar observadas entre março e junho de 2015 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, SP, Brasil. Fonte: Estação Agroclimatológica – FCAV/UNESP - Jaboticabal.

Tabela 1 - Altura de mudas de jabuticaba, cabeludinha, camu-camu, grumixama (Myrtaceae); caqui (Ebenaceae); bacupari (Clusiaceae); graviola, pindaíba (Annonaceae); caimito (Sapotaceae); caju (Anacardiaceae); nêspira (Rosaceae) e lichia (Sapindaceae), 90 dias após a inoculação com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação.

Tratamentos	Jabuticaba	Cabeludinha	Camucamu	Grumixama	Caqui	Bacupari	Graviola	Pindaíba	Caimito	Caju	Nêspira	Lichia
Encapsulamento (A)	ALTURA (cm)											
Controle	33,91 a	24,83 a	46,50 a	12,66 a	56,16 a	31,16 a	59,16 a	9,66 a	75,08 a	47,00 a	41,66 a	62,50 a
Argila	34,91 a	24,83 a	38,16 a	11,00 a	59,75 a	41,91 a	58,16 a	8,08 a	77,66 a	43,83 a	40,16 a	44,33 a
Alginato de sódio	41,33 a	26,16 a	41,75 a	11,83 a	57,66 a	37,16 a	60,83 a	7,83 a	54,33 b	48,16 a	43,08 a	49,83 a
Inóculo (B)	ALTURA (cm)											
Com inóculo	36,77 a	24,66 a	38,72 a	11,44 a	56,44 a	41,00 a	57,33 a	8,88 a	68,50 a	44,44 a	44,94 a	55,22 a
Sem inóculo	36,66 a	25,88 a	45,55 a	12,22 a	59,27 a	42,05 a	61,44 a	8,16 a	69,55 a	48,44 a	38,33 a	52,55 a
CV (%)	22,29	18,57	26,63	21,52	20,19	31,02	15,26	27,67	15,08	15,31	18,88	20,37
Test F												
Encapsulamento (A)	1,45 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,64 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,13 ^{ns}	1,06 ^{ns}	9,06 ^{**}	0,60 ^{ns}	0,21 ^{ns}	2,77 ^{ns}
Inóculo (B)	0,00 ^{ns}	0,30 ^{ns}	1,67 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,05 ^{ns}	1,28 ^{ns}	3,18 ^{ns}	0,27 ^{ns}
A x B	0,01 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,56 ^{ns}	1,18 ^{ns}	8,70 ^{**}	1,17 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,05 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo.

Tabela 2 - Desdobramento para a variável altura das mudas (cm) de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.), 90 dias após a inoculação com microrganismos promotores de crescimento em função da encapsulação.

Encapsulamento	Inóculo	
	Ausência	Presença
Altura de plantas (cm)		
Controle	65,33 aB	84,83 aA
Argila	74,50 aA	80,83 aA
Alginato de sódio	68,83 aA	39,83 bA

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 3 – Diâmetro do caule (DIAM) de mudas de jabuticaba, cabeludinha, camu-camu, grumixama (Myrtaceae); caqui (Ebenaceae); bacupari (Clusiaceae); graviola, pindaíba (Annonaceae); caimito (Sapotaceae); caju (Anacardiaceae); nêspira (Rosaceae) e lichia (Sapindaceae), 90 dias após a inoculação com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação.

Tratamentos	Jabuticaba	Cabeludinha	Camucamu	Grumixama	Caqui	Bacupari	Graviola	Pindaíba	Caimito	Caju	Nêspira	Lichia
Encapsulamento (A)						DIAM (mm)						
Controle	7,12 a	2,90 a	3,83 a	2,13 a	6,85 a	6,65 a	9,61 a	2,58 a	9,21 a	7,76 a	4,22 a	9,37 a
Argila	7,00 a	2,93 a	3,60 a	2,02 a	5,93 a	6,24 a	8,69 a	2,18 a	9,07 a	6,98 a	3,54 a	8,68 a
Alginato de sódio	7,22 a	2,50 a	3,50 a	1,96 a	7,43 a	7,07 a	8,51 a	2,31 a	7,31 a	7,77 a	4,05 a	8,31 a
Inóculo (B)						DIAM (mm)						
Com inóculo	7,14 a	2,84 a	3,32 b	2,07 a	6,77 a	6,31 a	9,00 a	2,37 a	9,27 a	7,24 a	3,92 a	9,64 a
Sem inóculo	7, 10 a	2,71 a	3,97 a	2,00 a	6,70 a	6,99 a	8,87 a	2,35 a	7,79 b	7,77 a	3,93 a	7,93 b
CV (%)	11,69	19,19	12,14	17,43	15,23	36,12	10,59	22,49	16,68	14,28	16,32	17,82
Test F												
Encapsulamento (A)	0,11 ^{ns}	1,25 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,35 ^{ns}	3,24 ^{ns}	0,18 ^{ns}	2,33 ^{ns}	0,89 ^{ns}	3,33 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,83 ^{ns}	0,71 ^{ns}
Inóculo (B)	0,01 ^{ns}	0,28 ^{ns}	9,55 ^{**}	0,19 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,00 ^{ns}	4,89 [*]	1,10 ^{ns}	0,00 ^{ns}	5,38 [*]
A x B	2,02 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,35 ^{ns}	1,05 ^{ns}	0,21 ^{ns}	2,85 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,30 ^{ns}	0,90 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,16 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo.

Tabela 4 – Massa seca da parte aérea (MSPA) de mudas de jabuticaba, cabeludinha, camu-camu, grumixama (Myrtaceae); caqui (Ebenaceae); bacupari (Clusiaceae); graviola, pindaíba (Annonaceae); caimito (Sapotaceae); caju (Anacardiaceae); nêspira (Rosaceae) e lichia (Sapindaceae), 90 dias após a inoculação com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação.

Tratamentos	Jabuticaba	Cabeludinha	Camucamu	Grumixama	Caqui	Bacupari	Graviola	Pindaíba	Caimito	Caju	Nêspira	Lichia
Encapsulamento (A)						MSPA (g)						
Controle	9,79 a	4,83 a	6,34 a	4,40 a	12,04 a	21,18 a	11,92 a	4,89 a	33,52 a	12,04 a	15,42 a	10,86 a
Argila	9,26 a	5,14 a	4,61 a	4,62 a	11,49 a	18,16 a	12,19 a	4,62 a	34,60 a	11,49 a	12,05 a	11,59 a
Alginato de sódio	12,35 a	6,66 a	4,59 a	4,89 a	10,47 a	22,21 a	14,23 a	4,89 a	23,95 a	10,12 a	13,36 a	11,69 a
Inóculo (B)						MSPA (g)						
Com inóculo	10,35 a	5,14 a	4,60 a	4,67 a	11,70 a	16,97 a	11,53 a	4,71 a	35,51 a	11,46 a	14,85 a	12,22 a
Sem inóculo	10,58 a	5,95 a	5,76 a	4,60 a	10,97 a	24,97 a	14,04 a	4,89 a	25,88 a	10,97 a	12,38 a	10,54 b
CV (%)	32,50	29,17	31,91	9,46	15,81	75,66	28,17	10,25	40,53	16,17	30,25	13,80
Test F												
Encapsulamento (A)	1,41 ^{ns}	0,21 ^{ns}	2,21 ^{ns}	1,86 ^{ns}	1,18 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,61 ^{ns}	1,33 ^{ns}	1,79 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,50 ^{ns}
Inóculo (B)	0,02 ^{ns}	1,12 ^{ns}	2,19 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,94 ^{ns}	2,17 ^{ns}	0,56 ^{ns}	2,70 ^{ns}	0,33 ^{ns}	1,62 ^{ns}	5,15 [*]
A x B	0,30 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,50 ^{ns}	3,37 ^{ns}	1,06 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,46 ^{ns}	1,64 ^{ns}	0,88 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo.

Tabela 5 – Massa seca da raiz (MSR) de mudas de jabuticaba, cabeludinha, camu-camu, grumixama (Myrtaceae); caqui (Ebenaceae); bacupari (Clusiaceae); graviola, pindaíba (Annonaceae); caimito (Sapotaceae); caju (Anacardiaceae); nêspira (Rosaceae) e lichia (Sapindaceae), 90 dias após a inoculação com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação.

Tratamentos	Jabuticaba	Cabeludinha	Camucamu	Grumixama	Caqui	Bacupari	Graviola	Pindaíba	Caimito	Caju	Nêspira	Lichia
Encapsulamento (A)						MSR (g)						
Controle	6,03 a	1,26 a	2,97 a	1,31 a	5,85 a	7,02 a	8,18 a	1,18 a	10,54 a	1,97 a	3,17 a	3,33 a
Argila	5,25 a	1,33 a	2,09 a	1,25 a	5,82 a	5,53 a	6,82 a	1,23 a	11,09 a	1,95 a	2,47 a	3,62 a
Alginato de sódio	7,28 a	1,86 a	1,74 a	1,08 a	5,77 a	6,57 a	5,95 a	1,01 a	6,85 a	2,02 a	2,49 a	3,16 a
Inóculo (B)						MSR (g)						
Com inóculo	5,97 a	1,44 a	2,01 a	1,25 a	5,91 a	6,07 a	6,98 a	1,11 a	11,76 a	1,92 a	2,79 a	3,74 a
Sem inóculo	6,41 a	1,53 a	2,40 a	1,18 a	5,72 a	6,68 a	6,99 a	1,17 a	7,22 b	2,04 a	2,63 a	2,99 a
CV (%)	23,26	39,65	32,86	16,24	7,98	68,71	49,33	15,15	43,31	19,80	54,63	26,43
Test F												
Encapsulamento (A)	3,03 ^{ns}	1,86 ^{ns}	3,26 ^{ns}	2,03 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,64 ^{ns}	2,69 ^{ns}	1,89 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,40 ^{ns}
Inóculo (B)	0,42 ^{ns}	0,11 ^{ns}	1,29 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,64 ^{ns}	5,50 [*]	0,38 ^{ns}	0,05 ^{ns}	3,17 ^{ns}
A x B	0,62 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,33 ^{ns}	1,22 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,21 ^{ns}	2,59 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,47 ^{ns}	0,63 ^{ns}	1,95 ^{ns}	1,01 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo.

CAPÍTULO 3 – Parâmetros microbiológicos em substrato de mudas frutíferas inoculado com microrganismos encapsulados

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas sobre o carbono da biomassa microbiana, nitrogênio e fósforo do solo e estimar a atividade microbiana em substrato utilizado para o crescimento de mudas frutíferas. O inóculo microbiano continha as seguintes espécies: *Azospirillum brasilense*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Trichoderma* spp. e Isolado 411. As espécies frutíferas avaliadas foram: *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral (cabeludinha); *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh (camu-camu); *Annona muricata* L. (graviola); *Chrysophyllum cainito* L. (caimito); e *Litchi chinensis* Sonn. (lichia). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 (controle, alginato de sódio e argila) x 2 (presença e ausência de inóculo microbiano) com cinco repetições (uma muda por repetição), durante 90 dias. Ao final deste período, foram avaliados os seguintes parâmetros nas amostras do solo: atividade enzimática da desidrogenase (AED), determinação do amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-), fosfato solúvel em bicarbonato (FSB), carbono da biomassa microbiana (CBM) e número total de bactérias (UFC). A atividade microbiana no substrato não foi influenciada pela adição de microrganismos encapsulados. Os agentes encapsulantes argila e alginato de sódio, com ou sem inóculo microbiano, podem modificar a atividade enzimática da desidrogenase, o nitrogênio e o carbono da biomassa microbiana no solo, porém são dependentes da espécie frutífera cultivada.

Palavras-chave: Propagação de frutíferas, encapsulamento, inóculo microbiano, bactérias promotoras do crescimento de plantas, desidrogenase, biomassa, carbono.

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the effect of the inoculation of the encapsulated plant growth promoter microorganisms on microbial biomass carbon, soil nitrogen and phosphorus and to estimate the microbial activity in the substrate used for seedlings of fruit species. The microbial inoculums contained the

species: *Azospirillum brasilense*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Trichoderma* spp. and Isolado 411. The fruit species evaluated were: *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral; *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh; *Annona muricata* L.; *Chrysophyllum cainito* L.; and *Litchi chinensis* Sonn. The experimental design was completely randomized in a factorial scheme 3 (control, sodium alginate and clay) x 2 (presence and absence of microbial inoculum) with five replicates (one seedling per replicate), for ninety days. At the end of this period, the following parameters were evaluated in the soil samples: enzymatic activity of dehydrogenase (AED), determination of ammonium (NH_4^+) and nitrate (NO_3^-), bicarbonate soluble phosphate (FSB), carbon of the microbial biomass (CBM) and total number of bacteria (UFC). Microbial activity in the substrate was not influenced by the addition of encapsulated microorganisms. The clay and sodium alginate encapsulating agents, with or without microbial inoculum, can modify the enzymatic activity of the dehydrogenase, the nitrogen and the carbon of the microbial biomass in the soil, but are dependent on the cultivated fruit species.

Keywords: Fruit propagation, encapsulation, microbial inoculum, plant growth promoting bacteria dehydrogenase, biomass, carbon.

1. INTRODUÇÃO

A qualidade do substrato é um dos principais fatores que garantem o sucesso da produção de mudas de espécies frutíferas. Um substrato adequado deve ser denso e firme, altamente decomposto e estável, suficientemente poroso para drenar o excesso de água, ser livre de pragas e doenças, apresentar baixa salinidade, ser capaz de ser pasteurizado ou tratado quimicamente, ter alta capacidade de troca de cátions (CTC), reter nutrientes e ser de fácil disponibilidade (HARTMANN et al., 2010).

Além destes aspectos, a presença de microrganismos benéficos às espécies a serem propagadas também pode ser vantajosa, pois existe uma grande diversidade de microrganismos que participam de processos biológicos, bioquímicos e biogeoquímicos responsáveis pela formação e manutenção da estrutura física e da

fertilidade do solo. Muitos destes microrganismos desempenham funções nas interações com plantas, tais como: fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato e micorrização, além de atuarem na ação antagônica aos patógenos e na produção de substâncias promotoras ou inibidoras do crescimento das plantas, contribuindo, dessa forma, para a fertilidade do solo e nutrição das plantas (ANDREOLA; FERNANDES, 2007). Os microrganismos são responsáveis pelos processos de mineralização, representando eles próprios uma quantidade considerável de nutrientes potencialmente disponíveis para as plantas (HAYAT et al., 2010). Consequentemente, os processos mais importantes no solo que afetam a biodisponibilidade de nutrientes são regulados pela microbiota (FRIGHETTO; VALARINI, 2000).

A encapsulação é considerada uma técnica importante para a manutenção da estabilidade dos microrganismos e possibilita aumentar a resistência das bactérias às condições do substrato, podendo ser um meio utilizado para a inoculação de microrganismos. Dentre os muitos tipos de materiais encapsulantes, o alginato de cálcio e de sódio, bem como as proteínas do soro do leite e as gomas tem sido os mais utilizados (SCHOEBITZ et al., 2013; VEMMER; PATEL, 2013). A argila é outro material que pode ser adicionado às formulações e utilizado como agente encapsulante de microrganismos, sendo uma alternativa promissora por causa da sua grande disponibilidade e custo baixo (CARNEIRO; GOMES, 1997; MESSA et al., 2016). Os minerais de argila oferecem espaço intercalar expansível que pode ser colonizado por microrganismos (PARK et al., 2013) e por isso, são reconhecidos como moléculas de proteção dos mesmos.

A avaliação da atividade microbiana tem sido considerada como um parâmetro sensível para avaliar as variáveis microbiológicas no solo. Desta forma, a influência dos microrganismos pode ser avaliada através do conteúdo da biomassa de carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P), bem como pela atividade enzimática responsável pelas transformações e disponibilidade de nutrientes no solo (ALVES et al., 2011; CAPUANI et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas, encapsulados, sobre o carbono da biomassa

microbiana, nitrogênio e fósforo do solo e estimar a atividade microbiana em substrato utilizado para mudas de espécies frutíferas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do estudo

O experimento foi conduzido entre 16 de março e 16 de junho de 2015 (90 dias) em viveiro telado pertencente ao Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal-SP (21°14'05 de Latitude Sul, 48°17'09" de Longitude Oeste e altitude de 590 m). Os dados meteorológicos observados para o período encontram-se na Figura 1.

2.2 Material vegetal

Todas as mudas das espécies frutíferas estudadas foram originadas de sementes obtidas de plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasma da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal. Os microrganismos foram inoculados nos substratos em que as mudas das seguintes espécies frutíferas estavam sendo conduzidas: *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral (cabeludinha); *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh (camu-camu); *Annona muricata* L. (graviola); *Chrysophyllum cainito* L. (caimito) e *Litchi chinensis* Sonn. (lichia).

O substrato utilizado foi composto de uma mistura de terra, areia e esterco bovino na proporção de 3:1:1 (v/v/v), disposto em sacos de polietileno (22 x 11 cm). A irrigação foi manual, diária, conforme monitoramento da umidade do substrato. As mudas foram mantidas sob telado com 50% de luminosidade, por um período de 90 dias.

2.3 Preparo do inóculo microbiano

O inóculo microbiano continha as seguintes espécies de microrganismos: *Azospirillum brasilense*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus thuringiensis*, *B. megaterium*,

B. cereus, *B. subtilis*, *Trichoderma* spp. e Isolado 411. Todos os microrganismos fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal.

Os microrganismos cresceram separadamente em caldo nutritivo por sete dias em frascos mantidos em B.O.D. (Eletrolab, modelo 347 F, Brasil), à temperatura de 25 °C. Após o período de incubação, os microrganismos foram centrifugados separadamente a 10.000 rpm durante 10 min a 28 °C (Novatecnica, modelo MLW K24, Brasil). A concentração do inóculo foi padronizada conforme recomendação de Barry e Thornsberry (1991) e Sahm e Washington II (1991) em 1×10^7 UFC mL⁻¹, com auxílio de espectrofotômetro (Micronal, modelo B382, Brasil) na absorbância de 695 nm.

2.4 Encapsulamento do inóculo com alginato de sódio

A cada solução de microrganismos foi adicionada uma solução de alginato de sódio (NaC₆H₇O₆) na concentração de 1% (m/v). As soluções de microrganismos acrescidas de alginato de sódio foram gotejadas em solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) 0,1 M, dando origem às esferas com o inóculo microbiano (SHEU; MARSHALL, 1993; SULTANA et al., 2000). A seguir, as esferas foram lavadas com água destilada com auxílio de uma peneira e submetidas ao processo de secagem em câmara de fluxo laminar por um período de seis horas e mantidas em temperatura ambiente (17 – 28 °C). Para cada 1 mL de solução de um microrganismo, foram originadas 12 esferas. Como em cada vaso foram aplicados oito microrganismos diferentes, conseqüentemente, cada vaso recebeu 96 esferas microbianas no total, que foram incorporadas ao substrato em um orifício de aproximadamente 10 cm de profundidade, a fim de se garantir maior proximidade do material depositado no substrato com as raízes das mudas. Para o tratamento que continha o alginato, este recebeu apenas as esferas de alginato de sódio sem a presença do inóculo microbiano, sendo adicionadas 96 esferas por vaso.

2.5 Encapsulamento do inóculo com argila

Para a inoculação dos microrganismos com a argila, preparou-se uma suspensão que continha 1 mL de cada microrganismo para 1 mL de argila na diluição de 1:3 (m/v) de água destilada (adaptado CARNEIRO; GOMES, 1997). Cada vaso recebeu no total 8 mL de inóculo microbiano adicionado a 8 mL de argila, que foram incorporados ao substrato em um orifício de aproximadamente 10 cm de profundidade, totalizando 16 mL por vaso. Para o tratamento que continha somente argila, realizou-se o mesmo procedimento, excluindo apenas a adição do inóculo microbiano.

Ao final dos noventa dias, separou-se o solo da planta, e este foi mantido em geladeira até a realização das análises da atividade da desidrogenase, determinação de amônio e nitrato, fosfato solúvel, carbono da biomassa microbiana e número total de bactérias.

2.6 Análises bioquímicas e microbiológicas do solo

As amostras de solo foram coletadas no final das avaliações, quando as plantas foram removidas dos vasos. Estas foram retiradas na região próxima à rizosfera, acondicionadas em sacos plásticos e levadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia do Solo, onde foram acomodadas em geladeira (5 °C) até a realização das análises. Avaliaram-se os seguintes parâmetros nas amostras do solo: atividade enzimática da desidrogenase (AED), determinação do amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-), fosfato solúvel em bicarbonato (FSB), carbono da biomassa microbiana (CBM) e número total de bactérias (UFC).

2.6.1 Atividade da enzima desidrogenase

A atividade da desidrogenase foi avaliada segundo o método descrito por Casida Júnior et al. (1964) empregando o cloreto trifeniltetrazólio (TTC) como receptor artificial de elétrons.

Para tal análise, pesaram-se 3 g de solo peneirado (abertura de malhas de 2 mm), sendo estes colocados em tubos de ensaio (18 x 180 mm), adicionou-se 0,03 g de CaCO_3 e em seguida 0,5 mL de solução aquosa de TTC 3%, foram acrescentados 1,3 mL de água destilada, os tubos foram tampados com filme plástico, e depois foram agitados e incubados em banho-maria por 24 h à temperatura de 37 °C. Após isto, adicionou-se aos frascos uma alíquota de 10 mL de metanol para a extração do TFF produzido a partir do TTC pela enzima presente no solo. Os tubos foram então agitados e as amostras filtradas em papel de filtro e procedida à leitura em espectrofotômetro, regulado no comprimento de ondas de 485 nm.

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

Seguiu-se o método de Keeney e Nelson (1982). Para a determinação dos teores de amônio (NH_4^+) utilizou-se aproximadamente 5 g de amostra do solo fino e seco ao ar, adicionou-se solução de cloreto de potássio 1 M sob agitação, após a decantação e extração retirou-se uma alíquota de 10 mL desse extrato e fez-se a determinação do amônio adicionando uma solução indicadora de ácido bórico para nitrogênio. Em seguida, iniciou-se a destilação em caldeira pré-aquecida após adicionar a amostra 0,2 g óxido de magnésio. O destilado foi recolhido até a marca de 40 mL em Erlenmeyer, e posteriormente, a amostra foi titulada com solução de ácido sulfúrico 0,0025 M até a viragem da coloração verde para o rosa.

Para a determinação do nitrato (NO_3^-), com a caldeira aquecida foi realizada a destilação da amostra, acrescentando 1 mL de ácido sulfâmico à frio. Pela saída lateral, foi acrescentado 0,2 g de liga Devarda, recolhendo o destilado em Erlenmeyer até a marca de 40 mL. O destilado foi titulado com solução de ácido sulfúrico 0,0025 M até a viragem da coloração verde para o rosa.

2.6.3 Fosfato solúvel em bicarbonato.

Para determinação dos teores de fósforo, utilizou-se o método de Wanatabe e Olsen (1965). Utilizou-se aproximadamente 0,6 g de terra fina seca ao ar

adicionando uma solução de bicarbonato de sódio 0,5 M sob agitação e, após a decantação, filtrou-se. Para a determinação do fósforo, utilizou-se o filtrado, no qual adicionou-se ácido sulfúrico 5 N e reagente B previamente preparado. Em seguida, agitou-se e incubou em banho-maria à 45 °C por 20 min. A determinação do fósforo foi feita por colorimetria após a leitura Abs 820 nm. O resultado foi expresso em $\mu\text{g de P g}^{-1}$ de solo seco.

2.6.4 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)

Foi utilizada a metodologia descrita por Mendonça e Matos (2005) que consiste na irradiação do solo utilizando micro-ondas para romper as células microbianas, liberando o constituinte microbiano, principalmente citoplasmático, o qual é extraído com solução aquosa de sulfato de potássio a 0,5 M.

Para cada amostra pesaram-se duas porções de 10 g de solo passado em peneira de 2 mm de abertura de malhas, em que uma delas foi irradiada em micro-ondas e a outra não foi irradiada.

Em seguida, as duas amostras, irradiadas e não irradiadas, foram colocadas em Erlenmeyer e acrescidas de 40 mL de sulfato de potássio (K_2SO_4) 0,5 M. Após isso, os frascos de Erlenmeyer foram levados à mesa agitadora horizontal por 30 min. Após este período, os frascos foram deixados em repouso por mais 30 min para que houvesse a decantação da massa mais grosseira do solo. O sobrenadante foi então retirado e passado por filtro lentamente, para se obter o extrato livre do solo e de partículas grosseiras de matéria orgânica. Do extrato filtrado foi retirada uma alíquota de 10 mL e colocada em Erlenmeyer de 125 mL, aos quais se adicionaram 2 mL de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 0,066 M para reagir com o CBM e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), pois o dicromato só reage com a matéria orgânica em meio ácido. Após isso, o filtrado foi resfriado e adicionado 50 mL de água destilada. Após novo resfriamento foram acrescentadas 4 gotas de indicador ferroim, para titulação com sulfato ferroso amoniacal ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0,03 M.

O carbono microbiano foi calculado pela diferença entre o carbono extraído do filtrado das amostras irradiadas e não irradiadas.

2.6.5 Número total de bactérias (UFC)

O número total de bactérias foi mensurado pela contagem de colônias, utilizando-se de espalhamento superficial em placas de Petri. A partir das diluições seriadas das amostras do solo, foram transferidas e espalhadas alíquotas em meio Agar, e após seu crescimento (24 horas) em estufa B.O.D, fez-se a contagem estimando as unidades formadoras de colônias (UFC), conforme metodologia de Wollum (1982).

2.7 Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 (controle, alginato de sódio e argila) x 2 (presença e ausência de inóculo microbiano) com cinco repetições (uma muda por repetição). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando-se o Software AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JÚNIOR, 2009).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk.) G. Barros & Sobral (cabeludinha)

Em relação às mudas de cabeludinha, foi observada diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) para a atividade enzimática da desidrogenase (AED) e os teores de nitrato (NO_3^-) (Tabela 1).

Para a AED, as diferenças foram observadas tanto no fator encapsulamento quanto no fator microrganismos, bem como na interação entre eles, porém foi observada maior AED no tratamento controle, quando comparado aos tratamentos com os agentes encapsulantes argila ou alginato de sódio, evidenciando que o encapsulamento interferiu na atividade enzimática dos microrganismos presentes de forma negativa. No entanto, quando se avaliou a presença e/ou ausência de

microrganismos, foi observada maior atividade enzimática na presença de microrganismos (Tabela 1).

Quando se analisou o desdobramento da interação da AED foi observado que, na ausência do inóculo microbiano, o tratamento controle apresentou maior atividade enzimática quando comparado com o encapsulamento em argila e alginato de sódio (Tabela 2), porém, na presença de microrganismos, não foram observadas diferenças entre os tratamentos. Dentro do fator encapsulamento, maior AED foi observada na presença do inóculo microbiano, tanto para a argila, quanto para o alginato de sódio.

Para as demais variáveis: teor de amônio, fosfato solúvel, carbono da biomassa microbiana e número total de bactérias, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1).

3.2 *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh (camu-camu)

Para o substrato que continha as mudas de camu-camu, foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para os teores de amônio (NH_4^+). Nesta espécie, maiores teores de NH_4^+ foram identificados no substrato quando se inoculou microrganismos, independente de estarem ou não encapsulados (Tabela 3). Para esta mesma variável, o teste F foi significativo também para a interação entre o encapsulamento e os microrganismos utilizados, indicando que os fatores A e B agem conjuntamente nos teores de NH_4^+ encontrados no substrato para mudas desta espécie.

Kumar e Singh (2001) também observaram que a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio aumentou os teores de N e P, causando um efeito significativo na disponibilidade destes nutrientes na produção de vermicomposto. Essas descobertas indicam que inoculações múltiplas com microrganismos na rizosfera podem promover o crescimento da planta e aumentar as concentrações e a absorção de N e P no solo (WANI; KHAN; ZAIDI, 2007).

No desdobramento para os valores da concentração de amônio na presença do inóculo microbiano, maior teor de NH_4^+ foi observado no tratamento com o alginato de sódio, porém não diferiu do tratamento com argila (Tabela 4). Estes

resultados variáveis da eficiência do encapsulamento de microrganismos e a viabilidade a longo prazo das células são aspectos fundamentais que precisam ser levados em consideração, uma vez que a interação entre o inóculo, o agente encapsulante e a rizosfera são de grande importância para o sucesso da técnica (VILCHEZ; MANZANERA, 2011).

3.3 *Annona muricata* L. (graviola)

Para o substrato que continha as mudas de graviola, foi observada diferença significativa para a análise da atividade enzimática da desidrogenase (AED). Similarmente ao observado com a espécie cabeludinha, a atividade enzimática dos substratos inoculados e encapsulados em argila não diferiu do tratamento controle (Tabela 5). Este resultado leva a crer que o encapsulante alginato de sódio interferiu na ação dos microrganismos e, com isso, prejudicou a AED de alguma forma, o que pode explicar também resultados não significativos para as demais variáveis.

Por outro lado, quando *Bacillus subtilis* foram encapsulados em alginato de sódio enriquecido com ácido húmico estes se mantiveram viáveis durante 5 meses em diferentes condições de pH, com elevada capacidade de solubilizar fosfato *in vitro*, além de promover com sucesso o crescimento de plantas de alface (YOUNG et al., 2006; REKHA et al., 2007). Estes resultados sugerem que a adição do ácido húmico à formulação pode prolongar as perspectivas da técnica de encapsulação e, conseqüentemente, melhor estabelecimento e sobrevivência dos microrganismos na rizosfera.

3.4 *Chrysophyllum cainito* L. (caimito)

Os teores de nitrogênio, na forma de amônio (NH_4^+) e de nitrato (NO_3^-) mostraram resultados com diferenças significativas no substrato das mudas de caimito (Tabela 6). Os maiores teores de NH_4^+ e de NO_3^- foram encontrados no substrato que não foi inoculado por microrganismos (controle). (Tabela 6). Em relação ao encapsulante, o alginato de sódio apresentou um melhor resultado para

os valores de NO_3^- , quando comparado com o controle, porém este não diferiu dos resultados observados na argila (Tabela 6).

Sahim, Çakmakçi e Kantar (2004) afirmam que os efeitos da inoculação microbiana no solo podem variar significativamente de acordo com as condições ambientais, as estirpes bacterianas e as condições da planta e do solo. Este fato talvez possa explicar a variação de resultados observados de uma espécie frutífera para outra, mesmo se utilizando o mesmo substrato e grupo de microrganismos.

Quando se observam os resultados do desdobramento para a interação entre o encapsulamento e a inoculação de microrganismos para os teores de NO_3^- no substrato das mudas de caimito, pode-se observar que, na ausência do inóculo microbiano, tanto argila como o alginato de sódio, apresentaram-se maiores teores de NO_3^- quando comparados com o controle (Tabela 7). No entanto, na presença do inóculo, não existe diferença entre os teores de NO_3^- encontrados. Estes resultados sugerem que o encapsulamento não foi suficientemente eficaz na ação da atividade biológica dos microrganismos promotores de crescimento no substrato.

3.5 *Litchi chinensis* Sonn. (lichia)

Para o substrato contendo as mudas de lichia, foi possível observar diferenças significativas nos teores de nitrogênio (NH_4^+ e NO_3^-) e no carbono da biomassa microbiana (CBM), tanto no fator encapsulamento quanto no fator inoculação dos microrganismos, bem como na interação entre estes fatores (Tabela 8). Maiores níveis de NH_4^+ foram observados quando o substrato foi inoculado por microrganismos, tanto encapsulados com argila como com o alginato de sódio, evidenciando que ambos os encapsulantes foram eficientes na proteção e liberação do inóculo.

Para os níveis do CBM, não houve diferença entre o tipo de encapsulante utilizado e o controle, entretanto, melhores resultados foram observados quando se utilizou o inóculo microbiano (Tabela 8).

No desdobramento da interação para os teores de nitrogênio e carbono da biomassa microbiana no substrato das mudas de lichia, pode-se observar que, na ausência do inóculo, maiores valores de NH_4^+ foram encontrados com o agente

encapsulante argila, seguido do alginato de sódio, em comparação com o controle (Tabela 9). No entanto, na presença dos microrganismos, melhor resultado foi encontrado com o alginato, sendo que este não diferiu do controle. Para os níveis de NO_3^- , não houve diferenças entre os agentes encapsulantes, nem na presença ou ausência dos microrganismos.

Os valores do CBM apresentaram maior média quando não se utilizou inóculo microbiano, o que permite sugerir que, neste caso, os dois tipos de encapsulamento foram ineficientes no desenvolvimento dos microrganismos no substrato, uma vez que, quando inoculados diretamente resultaram em maiores valores de biomassa microbiana.

4. CONCLUSÃO

A atividade microbiana no substrato não foi influenciada pela adição de microrganismos encapsulados ao sistema.

Os agentes encapsulantes argila e alginato de sódio, com ou sem inóculo microbiano, podem modificar a atividade enzimática da desidrogenase, o nitrogênio e o carbono da biomassa microbiana no solo, porém são dependentes da espécie frutífera cultivada.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, T. S.; CAMPOS, L. L.; ELIAS NETO, N.; MATSUOKA, M.; LOUREIRO, M. F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 341-347, 2011.

ANDREOLA, F.; FERNANDES, S. A. P. A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (Eds.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. cap. 2, p.21-38.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **Software AgroEstat**: Sistema de análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 2009.

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures. In: BALOWS, A.; HAUSER, W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHAMODY, H. J. **Manual of clinical microbiology**. 5. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991. p. 1117-1125.

CAPUANI, S.; RIGON, J. P. G.; BELTRÃO, N. E. M.; BRITO NETO, J. F. Atividade microbiana em solos, influenciada por resíduos de algodão e torta de mamona. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 6, n. 12, p. 1269-1274, 2012.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Encapsulação do fungo *Paecilomyces lilacinus* em matrizes de alginato-argila e avaliação da viabilidade dos conídios em duas temperaturas. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 2, p. 85-92, 1997.

CASIDA JÚNIOR, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, Philadelphia, v. 98, n. 6, p. 371-376, 1964.

FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**: manual técnico. Jaguariúna, SP: Embrapa, 2000. 198 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. **Plant propagation**: principles and practices. 8. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2010. 928 p.

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, New York, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.

KEENEY, D. R.; NELSON, D. W. Nitrogen – inorganic forms. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Eds.). **Methods of soil analysis**. 2. ed. Madison: ASA-SSSA, Agronomy Monograph, n. 9, 1982. cap. 33, p. 643-698.

KUMAR, V.; SINGH, K. P.; Enriching vermicompost by nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 77, n. 2, p. 173-175, 2001.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. **Matéria orgânica do solo**: métodos de análises. Viçosa: UFV, 2005. 107 p.

MESSA, L. L.; FROES, J. D.; SOUZA, C. F.; FAEZ, R. Híbridos de quitosana-argila para encapsulamento e liberação sustentada do fertilizante nitrato de potássio. **Química Nova**, São Paulo, v. 39, n. 10, p. 1215-1220, 2016.

PARK, D. H.; HWANG, S. J.; OH, J. M.; YANG, J. H.; CHOY, J. H. Polymer–inorganic supramolecular nanohybrids for red, white, green, and blue applications. **Progress in Polymer Science**, Oxford, v. 38, n. 10, p. 1442-1486, 2013.

REKHA, P. D.; LAI, W. A.; ARUN, A. B.; YOUNG, C. C. Effect of free and encapsulated *Pseudomonas putida* CC-FR2-4 and *Bacillus subtilis* CC-pg104 on plant growth under gnotobiotic conditions. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 98, n. 2, p. 447-451, 2007.

SAHIM, F.; ÇAKMAKÇI, R.; KANTAR, F. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 265, p. 123-129, 2004.

SAHM, D. F.; WASHINGTON II, J. A. Antibacterial susceptibility tests: dilution methods. In: BALOWS, A.; HAUSER, W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.;

SHAMODY, H. J. **Manual of clinical microbiology**. 5. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991. p. 1105-1116.

SCHOEBITZ, M.; LÓPEZ, M.; ROLDÁN, A. Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 33, n. 4, p. 751-765, 2013.

SHEU, T. Y.; MARSHALL, R. T. Micro-encapsulation of Lactobacilli in calcium alginate gels. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 54, n. 3, p. 557–561, 1993.

SULTANA, K.; GODWARD, G.; REYNOLDS, N.; ARUMUGASWAMY, R.; PEIRIS, P.; KAILASAPATHY, K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 62, n. 1-2, p. 47-55, 2000.

VEMMER, M.; PATEL, A. V. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. **Biological Control**, San Diego, v. 67, n. 3, p. 380-389, 2013.

VILCHEZ, S.; MANZANERA, M. Biotechnological uses of desiccation-tolerant microorganisms for the rhizoremediation of soils subjected to seasonal drought. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 91, p. 1297-1304, 2011.

WANI, P. A.; KHAN, M. S.; ZAIDI, A. Synergistic effects of the inoculation with nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing rhizobacteria on the performance of field-grown chickpea. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 107, n. 2, p. 283-287, 2007.

WATANABE, F. S.; OLSEN, S. R. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO_3 extracts from soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 29, n. 6, p. 677-678, 1965.

WOLLUM, A. G. Cultural methods for soil microorganisms. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Eds.) **Methods of soil analysis**. 2. ed. Madison: ASA-SSSA, Agronomy Monograph, n. 9, 1982. cap. 37, p. 781-802.

YOUNG, C. C.; REKHA, P. D.; LAI, W. A.; ARUN, A. B. Encapsulation of plant growth-promoting bacteria in alginate beads enriched with humic acid. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 95, n. 1, p. 76-83, 2006.

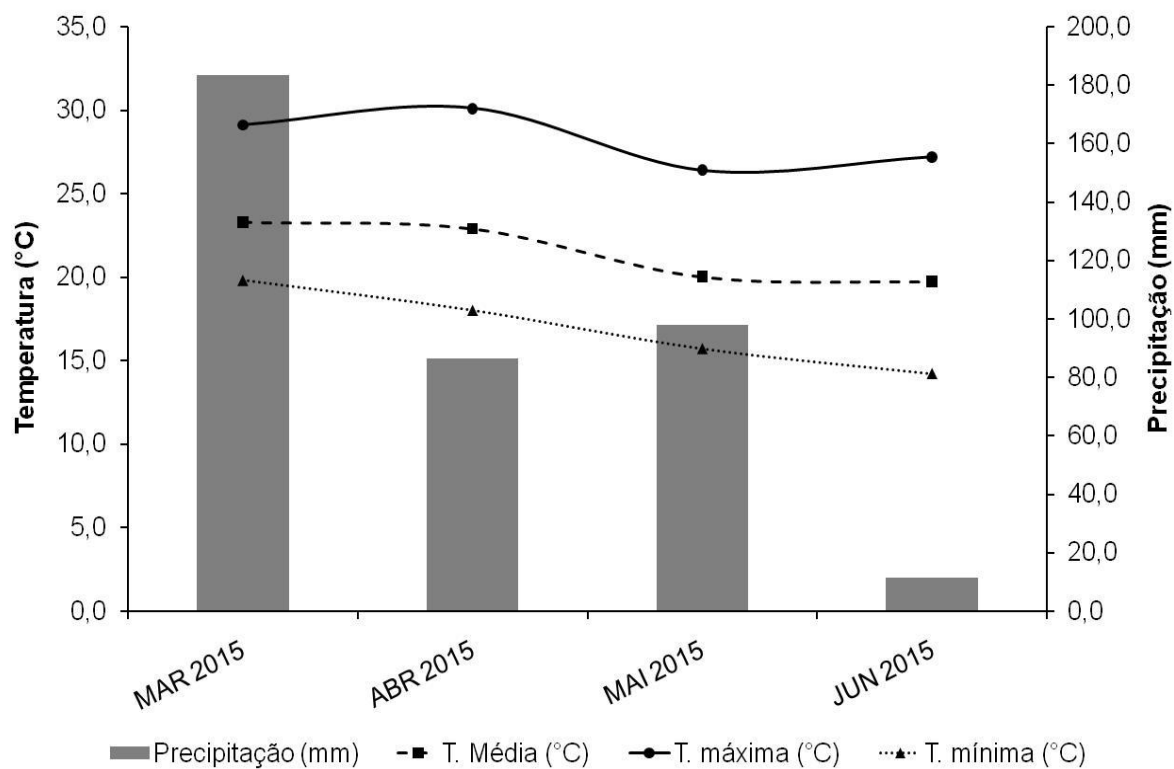


Figura 1. Precipitação pluviométrica e temperaturas média, máxima e mínima do ar observadas entre março e junho de 2015 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, SP, Brasil. Fonte: Estação Agroclimatológica – FCAV/UNESP - Jaboticabal.

Tabela 1. Análise conjunta para comparar a atividade enzimática da desidrogenase (AED), determinação de NH_4^+ e NO_3^- , fosfato solúvel em bicarbonato (FSB), carbono da biomassa microbiana (CBM) e suspensão bacteriana (SB) em substrato de mudas de cabeludinha (*Myrciaria glazioviana* (Kiaers.) G. Barros & Sobral) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação, 90 dias após inoculação.

Tratamentos	AED $\mu\text{g TFF g}^{-1}$ SS 24h ⁻¹	NH_4^+ Qtd de N $\mu\text{g SS}$	NO_3^- Qtd de N $\mu\text{g SS}$	FSB $\mu\text{g P g}^{-1}$ SS	CBM $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo	SB UFC g ⁻¹ de SS
Encapsulamento (A)						
Controle	297,57 a	84,00 a	54,25 a	7,97 a	30,55 a	2,37x10 ⁶ a
Argila	226,27 b	77,58 a	48,41 ab	8,36 a	23,79 a	1,33x10 ⁶ a
Alginato	219,27 b	81,66 a	47,25 b	8,42 a	10,89 a	1,27x10 ⁶ a
Microrganismos (B)						
Com microrganismo	291,83 a	79,72 a	48,61 a	8,44 a	20,86 a	2,03x10 ⁶ a
Sem microrganismo	203,95 b	82,44 a	51,33 a	8,06 a	22,62 a	1,28x10 ⁶ a
CV (%)	17,89	9,96	8,08	25,12	86,10	92,22
Test F						
Encapsulamento (A)	5,68*	0,97 ^{ns}	5,17*	0,08 ^{ns}	1,71 ^{ns}	0,98 ^{ns}
Microrganismos (B)	17,66*	0,51 ^{ns}	2,04 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,04 ^{ns}	1,07 ^{ns}
A x B	5,40*	0,51 ^{ns}	1,17 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,56 ^{ns}	1,46 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo. SS = solo seco.

Tabela 2. Desdobramento para atividade da enzima desidrogenase (AED) em substrato de mudas de cabeludinha (*Myrciaria glazioviana* (Kiaers.) G. Barros & Sobral) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em função da encapsulação, 90 dias após a inoculação.

Encapsulamento	Microrganismos	
	Ausência	Presença
	AED ($\mu\text{g TFF g}^{-1} \text{ SS } 24\text{h}^{-1}$)	
Controle	302,01 aA	293,13 aA
Argila	154,43 bB	298,12 aA
Alginato	155,43 bB	284,23 aA

Médias seguidas por mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). SS = solo seco.

Tabela 3. Análise conjunta para comparar a atividade enzimática da desidrogenase (AED), determinação de NH_4^+ e NO_3^- , fosfato solúvel em bicarbonato (FSB), carbono da biomassa microbiana (CBM) e suspensão bacteriana (SB) em substrato de mudas de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação, 90 dias após a inoculação.

Tratamentos	AED $\mu\text{g TFF g}^{-1}$ SS 24h ⁻¹	NH_4^+ Qtd de N $\mu\text{g SS}$	NO_3^- Qtd de N $\mu\text{g SS}$	FSB $\mu\text{g P g}^{-1}$ SS	CBM $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo	SB UFC g ⁻¹ de SS
Encapsulamento (A)						
Controle	126,81 a	76,41 a	45,50 a	7,46 a	23,51 a	1,11x10 ⁶ a
Argila	108,20 a	82,83 a	47,25 a	7,45 a	26,40 a	9,92x10 ⁶ a
Alginato	161,08 a	81,08 a	48,41 a	7,93 a	26,11 a	8,17x10 ⁶ a
Microrganismos (B)						
Com microrganismo	144,11 a	84,00 a	48,61 a	7,90 a	25,66 a	1,11x10 ⁶ a
Sem microrganismo	119,95 a	76,22 b	45,50 a	7,32 a	25,03a	8,29x10 ⁶ a
CV (%)	29,08	7,90	8,03	18,52	86,13	36,82
Test F						
Encapsulamento (A)	2,93 ^{ns}	1,64 ^{ns}	0,90 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,03 ^{ns}	1,03 ^{ns}
Microrganismos (B)	1,78 ^{ns}	6,78 [*]	3,05 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,00 ^{ns}	2,94 ^{ns}
A x B	0,79 ^{ns}	8,15 ^{**}	2,05 ^{ns}	0,34 ^{ns}	1,51 ^{ns}	2,62 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo. SS = solo seco.

Tabela 4. Desdobramento para determinação de NH_4^+ em substrato de mudas de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em função da encapsulação, 90 dias após a inoculação.

Encapsulamento	Microrganismos	
	Ausência	Presença
	NH_4^+ (Qtd de N μg SS)	
Controle	78,16 aA	74,66 bA
Argila	81,66 aA	84,00 abA
Alginato	68,33 aB	93,00 aA

Médias seguidas por mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). SS = solo seco.

Tabela 5. Análise conjunta para comparar a atividade enzimática da desidrogenase (AED), determinação de NH_4^+ e NO_3^- , fosfato solúvel em bicarbonato (FSB), carbono da biomassa microbiana (CBM) e suspensão bacteriana (SB) em substrato de mudas de graviola (*Annona muricata* L.) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação, 90 dias após a inoculação.

Tratamentos	AED $\mu\text{g TFF g}^{-1}$ SS 24 h ⁻¹	NH_4^+ Qtd de N $\mu\text{g SS}$	NO_3^- Qtd de N $\mu\text{g SS}$	FSB $\mu\text{g P g}^{-1}$ SS	CBM $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo	SB UFC g ⁻¹ de SS
Encapsulamento (A)						
Controle	230,70 ab	77,58 a	62,41 a	6,44 a	21,03 a	2,73x10 ⁶ a
Argila	252,28 a	78,75 a	63,00 a	5,72 a	32,60 a	2,64x10 ⁶ a
Alginato	191,03 b	85,16 a	64,16 a	5,73 a	16,36 a	2,12x10 ⁶ a
Microrganismos (B)						
Com microrganismo	217,23 a	78,94 a	61,44 a	6,55 a	21,00 a	2,63x10 ⁶ a
Sem microrganismo	232,11 a	82,05 a	64,94 a	5,39 a	25,66 a	2,37x10 ⁶ a
CV (%)	15,66	10,09	12,10	40,70	56,19	61,10
Test F						
Encapsulamento (A)	4,68*	1,52 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,17 ^{ns}	2,44 ^{ns}	0,28 ^{ns}
Microrganismos (B)	0,80 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,94 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,13 ^{ns}
A x B	1,76 ^{ns}	1,62 ^{ns}	2,55 ^{ns}	1,18 ^{ns}	0,02 ^{ns}	1,83 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo. SS = solo seco.

Tabela 6. Análise conjunta para comparar a atividade enzimática da desidrogenase (AED), determinação de NH_4^+ e NO_3^- , fósforo solúvel em bicarbonato (FSB), carbono da biomassa microbiana (CBM) e suspensão bacteriana (SB) em substrato de mudas de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação, 90 dias após a inoculação.

Tratamentos	AED $\mu\text{g TFF g}^{-1}$ SS 24h ⁻¹	NH_4^+ Qtd de N $\mu\text{g SS}$	NO_3^- Qtd de N $\mu\text{g SS}$	FSB $\mu\text{g P g}^{-1}$ SS	CBM $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo	SB UFC g ⁻¹ de SS
Encapsulamento (A)						
Controle	394,23 a	75,83 a	39,66 b	9,83 a	32,88 a	1,92x10 ⁶ a
Argila	384,72 a	87,50 a	46,08 ab	9,52 a	40,27 a	3,00x10 ⁶ a
Alginato	370,61 a	84,58 a	48,41 a	8,27 a	35,97 a	3,19x10 ⁶ a
Microrganismos (B)						
Com microrganismo	387,87 a	74,27 b	40,83 b	9,49 a	36,63 a	2,39x10 ⁶ a
Sem microrganismo	378,51 a	91,00 a	48,61 a	8,92 a	36,12 a	3,01x10 ⁶ a
CV (%)	10,07	11,20	12,51	18,91	50,68	45,42
Test F						
Encapsulamento (A)	0,57 ^{ns}	2,58 ^{ns}	3,93 [*]	1,35 ^{ns}	0,24 ^{ns}	1,85 ^{ns}
Microrganismos (B)	0,26 ^{ns}	14,67 ^{**}	8,70 [*]	0,49 ^{ns}	0,00 ^{ns}	1,15 ^{ns}
A x B	0,05 ^{ns}	1,53 ^{ns}	3,93 [*]	1,86 ^{ns}	0,16 ^{ns}	2,97 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo. SS = solo seco.

Tabela 7. Desdobramento para determinação de NO_3^- em substrato de mudas de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em função da encapsulação, 90 dias após a inoculação.

Encapsulamento	Microrganismos	
	Ausência	Presença
	NO_3^- (Qtd de N μg SS)	
Controle	38,50 bA	40,83 aA
Argila	51,33 aA	40,83 aB
Alginato	56,00 aA	40,83 aB

Médias seguidas por mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). SS = solo seco.

Tabela 8. Análise conjunta para comparar a atividade enzimática da desidrogenase (AED), determinação de NH_4^+ e NO_3^- , fosfato solúvel em bicarbonato (FSB), carbono da biomassa microbiana (CBM) e suspensão bacteriana (SB) em substrato de mudas de lichieira (*Litchi chinensis* Sonn.) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em dois métodos de encapsulação, 90 dias após a inoculação.

Tratamentos	AED $\mu\text{g TFF g}^{-1}$ SS 24h ⁻¹	NH_4^+ Qtd de N $\mu\text{g SS}$	NO_3^- Qtd de N $\mu\text{g SS}$	FSB $\mu\text{g P g}^{-1}$ SS	CBM $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo	SB UFC g ⁻¹ de SS
Encapsulamento (A)						
Controle	190,20 a	68,25 b	43,75 a	10,82 a	34,19 a	5,31x10 ⁵ a
Argila	160,34 a	75,83 a	43,75 a	10,11 a	29,86 a	7,03x10 ⁵ a
Alginato	166,05 a	75,83 a	43,75 a	10,85 a	23,42 a	7,95x10 ⁵ a
Microrganismos (B)						
Com microrganismo	179,63 a	71,55 b	44,72 a	10,35 a	33,73 a	6,78x10 ⁵ a
Sem microrganismo	164,76 a	75,05 a	42,77 a	10,83 a	24,58 b	6,75x10 ⁵ a
CV (%)	24,89	3,55	4,61	9,48	25,85	44,93
Test F						
Encapsulamento (A)	0,82 ^{ns}	16,90 ^{**}	0,00 ^{ns}	1,03 ^{ns}	3,10 ^{ns}	1,16 ^{ns}
Microrganismos (B)	0,54 ^{ns}	8,10 [*]	4,17 ^{ns}	1,03 ^{ns}	6,63 [*]	0,00 ^{ns}
A x B	0,05 ^{ns}	33,30 ^{**}	4,67 [*]	1,32 ^{ns}	8,88 ^{**}	0,68 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ns não significativo. SS = solo seco.

Tabela 9. Desdobramento para determinação de NH_4^+ , NO_3^- e carbono da biomassa microbiana (CBM) em substrato de mudas de lichieira (*Litchi chinensis* Sonn.) inoculadas com microrganismos promotores de crescimento em função da encapsulação, 90 dias após a inoculação.

Encapsulamento	Microrganismos	
	Ausência	Presença
NH_4^+ (Qtd de N μg SS)		
Controle	64,16 cB	72,33 ab A
Argila	84,00 aA	67,66bB
Alginato	77,00 bA	74,66aA
NO_3^- (Qtd de N μg SS)		
Controle	40,83 aB	46,66 aA
Argila	43,16 aA	44,33 aA
Alginato	44,33 aA	43,16 aA
CBM ($\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo)		
Controle	39,80 aA	28,58 aA
Argila	17,68 bB	42,05 aA
Alginato	16,27 bB	30,58 aA

Médias seguidas por mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). SS = solo seco.

CAPÍTULO 4 – Considerações finais

A fruticultura merece destaque no Brasil, pois é uma fonte geradora de emprego e renda, em todas as regiões do país, onde é cultivada principalmente por agricultores de pequeno e médio porte. Entretanto, o sucesso para a implantação do pomar depende do planejamento e cuidado na produção de mudas. Com os custos de produção cada vez maiores e a exigência da sustentabilidade ambiental no campo da produção agrícola, o uso de insumos químicos podem ser reduzidos com alternativas promissoras como a inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas no substrato de produção das mudas.

O desenvolvimento de novas tecnologias em complementação às atualmente disponíveis contribuirá para a melhoria da produtividade, como a utilização dos microrganismos promotores de crescimento, como observado neste trabalho. Espera-se possibilitar o aumento da produção nos viveiros de plantas frutíferas, sendo de fundamental importância o uso de técnicas apropriadas para obtenção e estabelecimento do inóculo microbiano no substrato, selecionando-se espécies adequadas a cada tipo de frutífera cultivada.

No presente trabalho, buscou-se aumentar o potencial benéfico e promotor de crescimento dos microrganismos encapsulando os mesmos em cápsulas protetoras de argila e alginato de sódio, porém os resultados positivos foram dependentes da espécie frutífera utilizada, necessitando-se investigar outros métodos de inoculação e outros materiais que possam ser agentes encapsulantes mais eficientes na proteção dos microrganismos.

A elevada variação de resultados entre as espécies frutíferas investigadas neste estudo, aliada à irregular atividade microbiana no substrato utilizado, quando observado o desempenho dos microrganismos avaliados, sugere que mais estudos são necessários para desenvolver técnicas de inoculação e microrganismos selecionados compatíveis com as espécies frutíferas e que atendam às expectativas dos produtores, que sobrevivem desta atividade econômica.