

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

JÉSSICA ALVES DE OLIVEIRA

**BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO E
INOCULAÇÃO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS**

**Ilha Solteira
2022**

JÉSSICA ALVES DE OLIVEIRA

**BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE
FOSFATO E INOCULAÇÃO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de
Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutora em
Agronomia. Especialidade: Sistemas de
Produção.

Prof^a. Dr^a. Kátia Luciene Maltoni
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Rodrigues Cassiolato
Co-orientadora

Ilha Solteira
2022

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

O48b Oliveira, Jéssica Alves de.
Bioprospecção de bactérias solubilizadoras de fosfato e inoculação em arroz de terras altas / Jéssica Alves de Oliveira. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2022
89 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2022

Orientador: Kátia Luciene Maltoni
Coorientador: Ana Maria Rodrigues Cassiolato
Inclui bibliografia

1. Microbiologia agrícola. 2. Solubilização de fosfato. 3. Inoculação. 4. Arroz de terras altas.


Raiane da Silva Santos

Supervisor Técnico de Serviço
Setor Técnico de Biblioteca, Arquivamento, Tratamento e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB3 - 9999



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA TESE: BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO E
INOCULAÇÃO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS**

AUTORA: JÉSSICA ALVES DE OLIVEIRA

ORIENTADORA: KÁTIA LUCIENE MALTONI

COORIENTADORA: ANA MARIA RODRIGUES CASSIOLATO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA, área:
Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:



Documento assinado digitalmente
KÁTIA LUCIENE MALTONI
Data: 22/05/2022 21:20:35-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a Dr.^a KÁTIA LUCIENE MALTONI (Participação Virtual)

Departamento de Fitossanidade Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO (Participação Virtual)

Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. ORIVALDO ARF (Participação Virtual)

Fitotecnia Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / FEIS/UNESP - Ilt



Documento assinado digitalmente
EDSON LUIZ SOUCHIE
Data: 24/05/2022 12:12:34-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr. EDSON LUIZ SOUCHIE (Participação Virtual)

Departamento de Ciências Agrárias / INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS



Documento assinado digitalmente
DANIELA TIAGO DA SILVA CAMPOS
Data: 24/05/2022 16:04:15-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Profa. Dra. DANIELA TIAGO DA SILVA CAMPOS (Participação Virtual)

Laboratório de Microbiologia Agrícola / UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Ilha Solteira, 18 de maio de 2022

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, por estar sempre em meu caminho, iluminando e guiando às escolhas certas.

Aos meus pais Luiz e Maria, a quem devo tudo o que sou, por serem minha base, pelo apoio incondicional, pela confiança e amor que me fortalece todos os dias.

Aos meus irmãos, cunhados e sobrinhos por estarem ao meu lado sempre, dando o apoio que preciso em todos os momentos.

Ao meu marido Fábio, que foi meu braço direito nesse doutorado, assim como é na vida, pelos conselhos, carinho, paciência e momentos felizes.

Aos meus sogros pelo encorajamento, e por estarem sempre por perto torcendo por mim.

A todos os meus amigos que, perto ou longe, sempre me ajudam, apoiam e torcem por mim. Em especial às companheiras de doutorado Débora, Flávia e Juliana...consequimos!

À Unesp Ilha Solteira, por proporcionar a realização deste doutorado.

À Profa. Kátia L. Maltoni pela orientação, paciência e apoio tão necessário no último ano de doutorado em meio à uma pandemia e tantas mudanças em minha vida pessoal.

À Profa. Ana Maria R. Cassiolato por ter me recebido de braços abertos na Unesp, pela orientação, paciência e confiança.

Ao Prof. Orivaldo Arf pela oportunidade da realização do trabalho de campo, pela orientação, paciência e confiança.

Ao Professor Marco E. de Sá pelo suporte para as análises laboratoriais, pela confiança e amizade construída nestes anos de doutorado.

Ao Professor Paulo C. Ceresini pelo suporte para as análises laboratoriais, pela confiança e pelo apoio na aprovação do intercâmbio de doutorado sanduíche para a Universidade do Texas que, infelizmente, não foi realizado devido à pandemia.

A todos os professores, que se tornaram amigos, pelo aprendizado que fez com que eu continuasse e chegasse até aqui.

Aos membros da banca examinadora, pelo tempo cedido para a avaliação e pelas considerações realizadas, que foram muito bem-vindas, enriquecendo este trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e minha formação.

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

MUITO OBRIGADA!

“Viva como se fosse morrer amanhã.
Aprenda como se fosse viver para sempre”.

Mahatma Gandhi

RESUMO

O fósforo (P) é essencial para o desenvolvimento e produtividade das culturas, mas sua concentração nos solos de todo o mundo geralmente está abaixo do ideal. Quando aplicado pela fertilização mineral, é rapidamente fixado aos cátions do solo devido à sua alta reatividade, tornando-se em grande parte indisponível à absorção pelas plantas. Bactérias existentes no solo podem atuar na solubilização do P fixado, liberando-o para a solução do solo, onde fica disponível para absorção pelas plantas. Assim, esta pesquisa teve por objetivo isolar, selecionar e identificar bactérias do solo com potencial para solubilizar fosfatos e avaliar a inoculação dos isolados na redução e/ou eliminação da adubação mineral fosfatada em arroz de terras altas, bem como, seus efeitos sobre o crescimento, a produtividade e a qualidade do arroz. De trinta e dois isolados solubilizadores de fosfatos de cálcio e de ferro, foram selecionados três, por meio de testes *in vitro*, e posteriormente, identificados como *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp. Os isolados foram avaliados em ensaios em casa de vegetação e campo, em esquema fatorial 4 x 3 para as avaliações entre os tratamentos, e 4 x 3 + 2 para as comparações dos tratamentos às testemunhas, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de quatro doses de P (0; 23,3; 46,6 e 70 kg ha⁻¹), baseadas na utilização de 0, 1/3, 2/3 e 3/3 da dose recomendada para arroz de terras altas com a inoculação dos três isolados de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) (AAC01 – *Pantoea* sp.; AAC02 – *Enterobacter* sp. e AAC04 – *Klebsiella* sp.). Os tratamentos testemunha consistiram na aplicação de duas doses de P equivalentes a 0 e 70 kg ha⁻¹, sem inoculação. A inoculação de *Klebsiella* sp. promoveu ganhos significativos tanto no experimento em casa de vegetação, quanto no experimento em campo, com cerca de 33% de redução na adubação fosfatada. No experimento em casa de vegetação, a inoculação de *Enterobacter* sp. juntamente com a dose de 46,6 kg ha⁻¹ de P aumentou a respiração basal do solo e a massa fresca de parte aérea. A inoculação de *Pantoea* sp. aumentou a respiração basal do solo de forma linear até a dose de 70 kg ha⁻¹ de P e aumentou a massa fresca da raiz na dose de 46,6 kg ha⁻¹. No entanto, no experimento em campo esses isolados não mantiveram os efeitos. As doses de P utilizadas aumentaram os teores de P dos grãos de arroz, o teor de P nas raízes, a massa seca de parte aérea e a altura das plantas.

Palavras-chave: fósforo; solubilização; inoculante; *Oryza sativa* L.; Cerrado.

ABSTRACT

PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA BIOPROSPECTION AND UPLAND RICE INOCULATION

Phosphorus (P) is essential for crop development and productivity, but its concentration in soils around the world is generally suboptimal. When applied by mineral fertilization, it is rapidly attached to soil cations due to its high reactivity, making it largely unavailable for plant uptake. Bacteria in the soil can act to solubilize the fixed P, releasing it into the soil solution, where it is available for absorption by plants. Thus, this research aimed to isolate, select and identify soil bacteria with the potential to solubilize phosphates and evaluate the inoculation of the isolates in the reduction and/or elimination of phosphate mineral fertilization in upland rice, as well as its effects on growth, productivity and rice quality. From thirty-two isolates that solubilize calcium and iron phosphates, three were selected through in vitro tests, and later identified as *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. and *Klebsiella* sp. The isolates were evaluated in greenhouse and field trials, in a 4 x 3 factorial scheme for the evaluations between treatments, and 4 x 3 + 2 for the comparisons of treatments to controls, with four replications. The treatments consisted of a combination of four doses of P (0; 23.3; 46.6 and 70 kg ha⁻¹), based on the use of 0, 1/3, 2/3 and 3/3 of the recommended dose for upland rice with the inoculation of the three isolates of phosphate solubilizing bacteria (BSF) (AAC01 – *Pantoea* sp.; AAC02 – *Enterobacter* sp. and AAC04 – *Klebsiella* sp.). The control treatments consisted of the application of two doses of P equivalent to 0 and 70 kg ha⁻¹, without inoculation. The inoculation of *Klebsiella* sp. promoted significant gains both in the greenhouse experiment and in the field experiment, with about 33% reduction in phosphate fertilization. In the greenhouse experiment, the inoculation of *Enterobacter* sp. together with the dose of 46.6 kg ha⁻¹ of P increased basal soil respiration and shoot fresh mass. Inoculation of *Pantoea* sp. increased basal soil respiration linearly up to 70 kg ha⁻¹ of P and increased root fresh mass at 46.6 kg ha⁻¹. However, in the field experiment these isolates did not maintain the effects. The doses of P used increased the P content of rice grains, the P content in the roots, the dry mass of shoots and plant height.

Key words: phosphorus; solubilization; inoculation; *Oryza sativa* L.; Cerrado.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	9
1.1	OBJETIVOS	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	A IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO PARA A AGRICULTURA	11
2.2	PROBLEMAS RELACIONADOS AO USO DO FÓSFORO	12
2.3	USO DE MICRO-ORGANISMOS NA AGRICULTURA	13
2.4	BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO	14
2.5	GÊNEROS BACTERIANOS	15
2.6	INOCULAÇÃO EM ARROZ (<i>Oryza sativa</i> L.)	18
	REFERÊNCIAS	20
3	CAPÍTULO 1 – SELEÇÃO DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO	26
	RESUMO	26
3.1	ABSTRACT	26
3.2	INTRODUÇÃO	27
3.3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.5	CONCLUSÕES	38
	REFERÊNCIAS	39
4	CAPÍTULO 2 – ENSAIO EM CASA DE VEGETAÇÃO	43
	RESUMO	43
4.1	ABSTRACT	43
4.2	INTRODUÇÃO	44
4.3	MATERIAL E MÉTODOS	45
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.5	CONCLUSÕES	60
	REFERÊNCIAS	62
5	CAPÍTULO 3 – EXPERIMENTO EM CAMPO	65
	RESUMO	65

5.1	ABSTRACT	65
5.2	INTRODUÇÃO.....	66
5.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	67
5.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.5	CONCLUSÕES	81
	REFERÊNCIAS	82
6	CONCLUSÃO GERAL	87
	APÊNDICE A – FOTOS DA PESQUISA	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

O fósforo (P) é elemento químico essencial ao desenvolvimento e à produtividade das culturas. Sua disponibilidade no solo determina se as plantas poderão crescer e se desenvolver em uma determinada área, uma vez que é insubstituível na produção de alimentos. No entanto, grande parte dos solos de todo o mundo apresentam originalmente baixo teor de P disponível (LÓPEZ-ARREDONDO *et al.*, 2014), exigindo a adição de fertilizantes fosfatados para que o cultivo agrícola possa se estabelecer.

São características do P a imobilidade no solo, atribuída à sua lenta difusão e a capacidade de interagir fortemente com a maioria dos cátions, o que ocasiona a formação de complexos insolúveis no solo, que retiram o P da solução e o torna indisponível para a absorção pelas plantas (PANDA; RAHMAN; PANDA, 2016; NAUREEN *et al.*, 2018). Para superar essa imobilização e atender às exigências das culturas são adicionadas, regularmente, grandes quantidades de fertilizantes fosfatados, o que tem estabelecido uma nova condição aos solos onde sua quantidade total é alta, mas não suficientemente disponível para atender a demanda das plantas. Estima-se que de todo o P aplicado na agricultura nos últimos 50 anos mais da metade continue fixado no solo (WITHERS *et al.*, 2018).

Em geral, as plantas possuem dois mecanismos para maximizar a absorção de P, ou seja, mudanças na morfologia radicular, por meio do aumento da biomassa radicular com a produção de pelos e raízes laterais, o que permite explorar maior volume de solo para a absorção de nutrientes, e a melhoria da eficiência no uso de P (SONG *et al.*, 2019). Neste sentido, muitas bactérias e fungos têm demonstrado capacidade de mobilizar parte do P fixado liberando-o para a solução do solo, onde estará disponível para a absorção pelas plantas: são os solubilizadores de fosfato.

As bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) conseguem liberar P a partir de fontes inorgânicas, como os fosfatos de cálcio e ferro, por meio da liberação de ácidos e enzimas que, também, são eficientes nos processos de mineralização de fosfatos orgânicos (SHARMA *et al.*, 2013; LONG *et al.*, 2018). Além disso, possuem a capacidade de aumentar a área superficial das raízes das plantas por meio da produção de fito-hormônios (RICHARDSON *et al.*, 2011). Dessa forma, os micro-organismos solubilizadores de fosfato têm sido considerados a melhor estratégia para viabilizar o uso do P fixado aos solos, de forma ecológica, ambientalmente correta e economicamente viável.

O arroz (*Oryza sativa* L.), é cereal de grande importância por servir como base para a alimentação de cerca de um terço da população mundial (IRFAN *et al.*, 2020). O P é imprescindível ao crescimento e desenvolvimento destas plantas, sendo fator limitante para o perfilhamento e, conseqüentemente, para o rendimento da cultura (CRUSCIOL; SORATTO; ARF, 2007). De todo o P absorvido pelas plantas de arroz, 65% é exportado pelos grãos, o que torna a cultura uma importante fonte deste nutriente na alimentação humana (FAGERIA, 2006). Estabelecer mecanismos sustentáveis para o suprimento de P nesta cultura pode constituir importante ferramenta para a produção agrícola global.

Com o constante crescimento da população mundial e a necessidade de produzir alimentos para todos, aumentar a eficiência do uso do P no cultivo agrícola vem sendo considerado um desafio significativo. Para o Brasil é particularmente importante encontrar alternativas para o uso do P fixado ao solo, visto que grande parte do fertilizante fosfatado utilizado no país é importado. Neste sentido, são imprescindíveis pesquisas envolvendo a seleção para utilização de micro-organismos solubilizadores de P, assim como desenvolver e estabelecer práticas que aumentem a eficiência do uso do P na agricultura.

1.1 OBJETIVOS

Esta pesquisa teve por objetivo a liberação do P fixado ao solo, aumentando a disponibilidade para as plantas e diminuindo a necessidade de aplicação de fertilizantes fosfatados, com conseqüente redução na exploração das reservas naturais. Dessa forma, os objetivos específicos foram: 1) Isolar, selecionar e identificar bactérias do solo com potencial para a solubilização de fosfatos; 2) Avaliar a inoculação das BSF selecionadas na redução e/ou eliminação da adubação mineral fosfatada em arroz; 3) Verificar os efeitos da inoculação no crescimento, na produtividade e na qualidade do arroz; 4) Investigar a influência da inoculação sobre os teores de P da planta, do solo e dos grãos; 5) Avaliar os efeitos da inoculação sobre os atributos químicos do solo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A IMPORTÂNCIA DO FÓSFORO PARA A AGRICULTURA

O fósforo (P) é um nutriente importante para o desenvolvimento e produtividade das culturas. Este elemento químico participa de inúmeros processos no metabolismo das plantas, desde a divisão celular até a regulação de vias metabólicas e de processos de crescimento, incluindo o fornecimento de energia bioquímica (ATP - adenosina trifosfato). A deficiência de P é considerada uma das principais restrições biofísicas para a produção das culturas (PANDA; RAHMAN; PANDA, 2016; SONG *et al.*, 2019).

A indisponibilidade de P no solo interfere drasticamente em processos fundamentais para o desenvolvimento das plantas como respiração, fotossíntese, síntese de ácidos nucleicos e de proteínas e crescimento das células. Como resultado ocorrem diminuição da altura média das plantas, atraso na emergência das folhas, redução da brotação e do desenvolvimento de raízes secundárias, redução na produção de matéria seca e de grãos (GRANT *et al.*, 2001).

Plantas com deficiência em P geralmente apresentam caule e raiz pouco desenvolvidos, floração deficiente e, conseqüentemente, menor formação de sementes e frutos (JI; GURURANI; CHUN, 2014). O suprimento adequado de P durante as fases iniciais do desenvolvimento da planta é importante para estabelecer os primórdios das partes reprodutivas, com papel significativo no aumento da ramificação e força da raiz, conferindo vitalidade e capacidade de resistir a doenças. Dessa forma, é insubstituível na produção de alimentos e a sua disponibilidade no solo determina se as plantas poderão crescer e se desenvolver em uma determinada área.

Cerca de metade da produção atual de alimentos em todo o mundo é dependente de P (WELLMER; SCHOLZ, 2017), mas grande parte dos solos de todo o mundo são originalmente pobres no conteúdo de P disponível, o que determina a necessidade da adição de fertilizantes fosfatados para suprir as necessidades de P das culturas (LÓPEZ-ARREDONDO *et al.*, 2014). Essa prática, porém, tem estabelecido uma nova condição aos solos, onde a quantidade total de P é alta, excessiva em muitos casos, mas não disponível em quantidade suficiente para suprir a demanda pelas plantas.

2.2 PROBLEMAS RELACIONADOS AO USO DO FÓSFORO

São características próprias do P sua imobilidade no solo, atribuída à lenta difusão, e a capacidade de interagir fortemente com a maioria dos cátions (NUSSAUME *et al.*, 2011; NAUREEN *et al.*, 2018). A interação entre P e cátions ocasiona a formação dos complexos insolúveis que, precipitados, retiram o P da solução e o tornam indisponível para a absorção pelas plantas. Cátions de ferro (Fe^{3+}) e alumínio (Al^{3+}) são particularmente reativos com o P, sobretudo em solos ácidos, onde também pode ocorrer sua fixação na superfície das argilas. Assim, solos tropicais, altamente intemperizados, ácidos e ricos em Fe e Al são particularmente propensos à deficiência de P (GRANT *et al.*, 2001; VANCE; UHDE-STONE; ALLAN, 2003; PANDA; RAHMAN; PANDA, 2016).

Para superar a imobilização de P e atender à exigência das culturas, são regularmente aplicadas quantidades excessivas de fertilizantes fosfatados ao solo, resultando no acúmulo, cada vez maior, deste elemento na forma não disponível à absorção (SHAHZAD *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2018). Estima-se que, nos últimos 50 anos, quase metade de todo o P aplicado na agricultura tenha se fixado ao solo. No Brasil, cálculos apontam que, dos 45,7 milhões de toneladas de P aplicados ao solo, desde a década de 60, cerca de 22,8 milhões de toneladas continuam fixados ao solo (WITHERS *et al.*, 2018).

A quantidade excessiva de fertilizantes fosfatados adicionada ao solo ocasiona sérios problemas. Processos erosivos podem transportar o P que está acumulado no solo até rios e lagos, provocando sua eutrofização, com consequente proliferação de algas, morte de peixes e perda na qualidade da água potável (CARPENTER; BENNETT, 2011). Além disso, a crescente demanda por P em todo o mundo tem causado grande preocupação sobre a segurança do suprimento a longo prazo. As reservas mundiais de P, no entanto, são finitas e estimativas recentes indicam que as matérias primas utilizadas na fabricação de fertilizantes fosfatados, como o fosfato de rocha e a apatita, cujas principais reservas se localizam no Marrocos e na China, estão se tornando cada vez mais limitadas. Essas reservas exigem milhões de anos para serem formadas, sendo consideradas não-renováveis (KOPPELAAR; WEIKARD, 2013; LÓPEZ-ARREDONDO *et al.*, 2014).

Assim, estratégias alternativas para utilizar o P de maneira mais eficiente se tornam, cada vez mais importantes para que os sistemas agrícolas brasileiros sejam sustentáveis no futuro. A imobilização do P no solo é o maior problema a ser solucionado e encontrar mecanismos para utilizar esse potencial retido no solo poderia ajudar o país a se precaver contra uma possível escassez futura do nutriente ou a variações no preço do insumo

(WITHERS *et al.*, 2018; EMBRAPA, 2022). A liberação de parte do P fixado ao solo aumentaria a disponibilidade para as plantas e diminuiria a necessidade de novas aplicações de fertilizantes, com consequente redução na exploração das reservas e nos impactos ambientais negativos.

2.3 USO DE MICRO-ORGANISMOS NA AGRICULTURA

No Brasil, a produção agrícola tem se expandido rapidamente nas últimas décadas, sobretudo na região do Cerrado. Apesar do uso da terra ser um cenário promissor, no entanto, existe a preocupação com a intensificação da agricultura brasileira (PAVINATO *et al.*, 2020).

Esforços têm sido direcionados às opções alternativas, inovadoras e ecologicamente corretas para reduzir o uso de fertilizantes minerais e ecologicamente não corretos (RASHID *et al.*, 2016; GOUDA *et al.*, 2018).

Neste contexto, com o intuito de manter o equilíbrio ecológico, tem crescido o interesse pela busca de micro-organismos promotores do crescimento de plantas (MPCP). Estes micro-organismos, que ocorrem naturalmente no solo e na rizosfera de muitas plantas, são benéficos à agricultura pois podem ser isolados, multiplicados e devolvidos à rizosfera (inoculantes, biofertilizantes, biopesticidas, bioestimulantes) para estimular o crescimento das plantas por meio de mecanismos diretos e/ou indiretos (ELHAISSOUFI *et al.*, 2020).

Os MPCP estão envolvidos em diversas atividades bióticas do ecossistema solo tornando-o dinâmico para uma produção agrícola sustentável, colonizando competitivamente o sistema radicular das plantas e aumentando seu crescimento por diferentes mecanismos (GOUDA *et al.*, 2018).

Os efeitos diretos podem estar ligados a várias vias fisiológicas e bioquímicas, melhorando a nutrição das plantas por mecanismos relacionados à solubilização e absorção de nutrientes (P, K, Zn), fixação biológica de N₂ e produção de fitohormônios e sideróforos (BHATTACHARYYA; JHA, 2011; RAWAT; SHANKHDHAR; SHANKHDHAR, 2021). Além disso, os MPCP podem estimular indiretamente o crescimento das plantas, modulando os mecanismos de defesa locais e sistêmicos ou produzindo metabólitos secundários que se comportam como sinais indutores de imunidade das plantas contra ataques de patógenos (KUMAR; MAURYA; RAGHUWANSHI, 2014). De forma geral, estes são capazes de disponibilizar nutrientes, aumentar o crescimento das plantas, acelerar a germinação das sementes, melhorar as respostas de emergência das plântulas a fatores de estresse externos,

proteger as plantas de pragas, doenças e promover o crescimento das raízes (SOUZA *et al.*, 2012).

Nas últimas décadas foi descoberta uma grande variedade de gêneros bacterianos que possuem propriedades promotoras de crescimento de plantas, incluindo *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Achromobacter*, *Rhizobium*, *Pantoea*, *Agrobacterium*, entre outros (SOUZA *et al.*, 2012; ANZUAY, 2015; ESTEVÃO *et al.*, 2015). No entanto, a taxa de sucesso de determinado micro-organismos em condições de campo depende de suas interações, antagônicas ou sinérgicas, com micro-organismos nativos e/ou de sua inoculação conjunta com fertilizantes minerais e orgânicos (RASHID *et al.*, 2016).

Assim, a competitividade dos micro-organismos em ambientes naturais dependerá tanto de sua capacidade de sobreviver e multiplicar no solo, como do grau de intimidade entre MPCP e a planta hospedeira, que pode variar dependendo de onde e como as bactérias colonizam a planta (ESTEVÃO *et al.*, 2015). Portanto, faz-se necessária a seleção, e o entendimento do comportamento e eficácia de cada micro-organismos para o desenvolvimento de potenciais candidatos a promotor de crescimento de plantas.

2.4 BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO

Muitas bactérias e fungos presentes no solo podem atuar aumentando a biodisponibilidade de nutrientes (PII *et al.*, 2015). Os solubilizadores de fosfato são capazes de mobilizar o P que está fixado, liberando-o para a solução do solo, tornando-o disponível para absorção pelas plantas (SHARMA *et al.*, 2013; LONG *et al.*, 2018). Estes micro-organismos são encontrados principalmente em solo rizosférico e constituem, em média, 40% da população de micro-organismos do solo, sendo, a maior parte, bactérias (RICHARDSON *et al.*, 2009; SHARMA *et al.*, 2013).

As bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) atuam nas formas precipitadas de P, como os fosfatos de Fe e Al, por meio da produção e liberação de ácidos orgânicos, como ácidos glucônico, oxálico e cítrico (ARAÚJO; MACHADO, 2006; LONG *et al.*, 2018). Acredita-se que esses ácidos atuem no enfraquecimento das ligações minerais devido à adsorção e/ou quelação dos ânions orgânicos (OBURGUER; JONES; WENZEL, 2011). Estas atuam também na mineralização dos fosfatos presentes na matéria orgânica do solo, por meio de enzimas, como fosfatases e fitases (SHARMA *et al.*, 2013).

Além da ação direta na solubilização de P, as BSF são capazes de afetar a habilidade das plantas na aquisição de P do solo por meio de diversos mecanismos. Dentre esses estão o incremento da área superficial das raízes e a promoção do crescimento de raízes laterais e de pelos radiculares por meio da produção de fito-hormônios, e da produção de estímulos a processos metabólicos que são efetivos na solubilização e na mineralização a partir de formas pouco disponíveis de P inorgânico e orgânico (MENDES; REIS JUNIOR, 2003; RICHARDSON *et al.*, 2011). Algumas BSF também demonstram potencial como agentes de biocontrole contra alguns fitopatógenos, sendo capazes de produzir compostos antifúngicos, sideróforos, antibióticos, cianeto de hidrogênio e enzimas líticas, os quais inibem o crescimento de patógenos de plantas (ALORI; GLICK; BABALOLA, 2017).

Estudos de seleção e inoculação de BSF tem trazido resultados positivos. Panda, Rahman e Panda (2016), ao isolarem BSF da rizosfera de arroz, cardamomo, gengibre e milho, em solos ácidos, obtiveram 26 isolados com alta capacidade de solubilização, sendo a maioria da rizosfera de arroz. Shahzad *et al.* (2017) buscaram isolados de BSF a partir da rizosfera de algodão. Avaliando os efeitos da inoculação desses isolados em sementes de milho, verificaram aumentos significativos no comprimento da parte aérea das plantas, no diâmetro da espiga, na produtividade de grãos e na absorção de P do solo, além de melhorias nas propriedades bioquímicas de um solo argiloso.

Dessa forma, os micro-organismos solubilizadores de fosfato têm sido considerados a melhor estratégia para viabilizar o uso do P fixado aos solos, de forma ecológica, ambientalmente correta e economicamente viável (CORDELL; DRANGERT; WHITE, 2009; BHATTACHARYYA; JHA, 2012; SHARMA *et al.*, 2013). É imprescindível, portanto, que sejam realizadas mais pesquisas sobre a seleção e utilização desses micro-organismos, a fim de desenvolver e estabelecer a prática correta a ser utilizada na agricultura.

2.5 GÊNEROS BACTERIANOS

Klebsiella sp.

As bactérias do gênero *Klebsiella* são bacilares, Gram-negativas, aeróbias e anaeróbias facultativas, não-móveis, da Família Enterobacteriaceae. Este gênero pode ser encontrado na água, no solo, em plantas, frutas e, também, em isolamentos clínicos (LIMA, CLEMENRINO, GONÇALVES, 2009). As cepas de *Klebsiella* isoladas a partir de amostras clínicas e ambientais podem ser diferenciadas, sobretudo, com base em sua virulência. Ao compararem o genoma de duas cepas de *Klebsiella pneumoniae*, sendo uma isolada a partir de

amostra de solo, promotora de crescimento de plantas, e a outra uma cepa clínica de referência, Rajkumari, Singha e Pandey (2018) concluíram que a cepa isolada da amostra de solo, ao contrário da cepa clínica, não apresenta genes únicos de virulência sendo, portanto, segura para aplicação no solo. Além disso, isolados clínicos de *Klebsiella* sp. são menos eficientes na colonização das plantas.

As espécies deste gênero encontradas no solo são conhecidas por exibir importantes características promotoras de crescimento de plantas, como fixação de N₂, solubilização de P, produção de sideróforos e síntese de fito-hormônios (RAJPUT *et al.*, 2015), auxinas, diversas giberelinas e citocininas. Mostraram, ainda, melhorar a absorção de nutrientes pelas plantas, sobretudo pela solubilização de P, desenvolvimento radicular e indução de resistência sistêmica contra patógenos (SACHEDV *et al.*, 2009). Por meio da combinação desses mecanismos, sua associação às culturas pode ser benéfica e, portanto, contribuir para a redução do uso de recursos não renováveis.

Em estudo sobre a inoculação de *Klebsiella* sp. em arroz de terras altas, Li *et al.* (2020) verificaram que a cepa aumentou significativamente a concentração de P- disponível no solo e a produção de fito-hormônios, além de melhorar os parâmetros fotossintéticos das plantas. Em busca da obtenção dos melhores isolados para a solubilização de fosfato a partir do solo de diferentes áreas de produção, Sungthongwises *et al.* (2012) concluíram que o isolado de *Klebsiella pneumoniae* apresentou os melhores índices de solubilização para fosfatos de Fe e Al.

Buscando isolados solubilizadores de P a partir de solos sob diferentes condições de estresse, Walpola, Arunakumara e Yoon (2014) concluíram que o isolado de *Klebsiella oxytoca* atua na promoção do crescimento de plantas de feijão-mungo e constataram, além da solubilização de P, estímulo à produção de auxina e da enzima ACC desaminase, que aumenta a resistência da planta aos estresses ambientais. Embora *Klebsiella* seja considerada um modelo versátil para estudar os diversos processos envolvidos na promoção do crescimento de plantas, as pesquisas sobre o efeito deste gênero sobre as culturas ainda não foram realizadas de forma abrangente.

Pantoea sp.

Bactérias do gênero *Pantoea*, pertencentes à Família Enterobacteriaceae, são reconhecidas como Gram negativas, móveis, em forma de bastonete, com metabolismo anaeróbio facultativo. Embora alguns isolados estejam associados às doenças em plantas, muitas espécies tem sido extensivamente investigadas por seu papel como promotoras de

crescimento, agentes de controle biológico e intensificadores de resistência a estresses bióticos e abióticos.

Cherif-Silini *et al.* (2019) obtiveram isolados do gênero *Pantoea* que promoveram considerável crescimento de plantas de trigo, com aumento do acúmulo de P, K, teor de clorofila das plantas, concentração de auxina e diversos metabólitos secundários benéficos. Ao avaliarem o potencial de *Pantoea agglomerans* para a promoção do crescimento em plantas de arroz, Bhise e Dandge (2019) detectaram elevadas solubilização de P, colonização radicular e indução de resistência a estresse salino. Ainda, em estudo com a inoculação de *Pantoea alhagi* em plantas de arroz, Sun *et al.* (2020) verificaram que a inoculação aumentou massa fresca, comprimento de raiz e comprimento de parte aérea de plantas de arroz em comparação com as plantas controle.

Isolado de *Pantoea ananatis* mostrou eficácia significativa (mais de 50%) no controle biológico do brusone do arroz causada por *Magnaporthe grisea*, em experimentos conduzidos em casa de vegetação e campo. A evidente redução na severidade em experimentos em casa de vegetação e em campo foi atribuída à habilidade de *P. ananatis* em secretar enzimas hidrolíticas extracelulares (TOKPAH *et al.*, 2017). Da mesma forma, quando as raízes das plantas de arroz foram pré-tratadas com *P. agglomerans* antes da infecção, o número de lesões causadas por *Magnaporthe oryzae* foi reduzido (SPENCE *et al.*, 2014).

As características associadas aos processos mediados pelas espécies de *Pantoea* sugerem que seu papel na estrutura e dinâmica da comunidade das plantas é muito complexo. Assim, mais estudos devem ser realizados em relação à composição, diversidade e funções desses micro-organismos para decifrar a complexidade dessas interações, e possibilitar melhor vigor, sanidade e produtividade das plantas.

Enterobacter sp.

Os gêneros da família Enterobacteriaceae que apresentam membros descritos como bactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPB) são *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Pantoea* e *Serratia*, embora alguns desses gêneros também contenham espécies relatadas como patógenos de plantas, por exemplo *Erwinia carotovora* (RODRIGUEZ-DIAZ *et al.* 2008). O gênero *Enterobacter* se caracteriza por células em formato bastonete, Gram-negativas, móveis e facultativamente anaeróbicas. Isolados têm mostrado potencial para contribuir no desenvolvimento de sistemas agrícolas, geralmente de três maneiras diferentes: sintetizando compostos particulares para as plantas, facilitando a

absorção de certos nutrientes do solo e diminuindo ou prevenindo as plantas de adoecerem (KHALIFA *et al.*, 2016).

Os mecanismos de promoção de crescimento de plantas mediados por *Enterobacter* sp. ainda não são totalmente compreendidos. No entanto, a possível explicação inclui a capacidade de produzir a enzima ACC deaminase, aumentando o comprimento e o crescimento da raiz; a capacidade de produzir hormônios como auxina (AIA); a fixação simbiótica de N₂; o antagonismo contra bactérias fitopatogênicas pela produção de sideróforos; e a solubilização e mineralização de nutrientes, particularmente fosfatos minerais (KUMAR *et al.*, 2011; LEE *et al.*, 2019).

O gênero é muito diversificado e viável por seu potencial uso na agricultura como BPCP. A inoculação de isolado de *Enterobacter* sp. solubilizadora de P foi avaliada por Borham *et al.* (2017) em plantas de trigo, constatando-se aumento da altura e peso das plantas, da área foliar, do índice de clorofila, e do número e peso de grãos. Ao avaliar o potencial de solubilização de P por 18 isolados do gênero *Enterobacter* sobre plantas de quiabo, Roslan *et al.* (2020) observaram maior crescimento das plantas e aumento dos teores de P no solo e nas plantas.

A inoculação de mudas de arroz com cepas de *Enterobacter cloacae* gerou considerável aumento de biomassa vegetal (MEHNAZ *et al.* 2001). Ao avaliarem os efeitos da inoculação de *Enterobacter ludwigii* em plantas de arroz, Lee *et al.* (2019) reportaram que o isolado foi capaz de solubilizar fósforo e silício no solo por meio da produção de ácido cítrico, ácido lático e ácido acético. Além disso, os autores constataram aumento do comprimento das raízes e da parte aérea, peso da parte aérea, peso da raiz e teor de clorofila das plantas.

Portanto, *Enterobacter* sp. tem potencial para ser empregado como um inoculante eficiente para promover o crescimento de plantas, especialmente em terras agrícolas contendo quantidades abundantes de fosfato insolúveis. No entanto, mais estudos são necessários para estabelecer o gênero dentro do cenário agrícola mundial.

2.6 INOCULAÇÃO EM ARROZ (*Oryza sativa* L.)

As gramíneas têm apresentado respostas positivas à inoculação de micro-organismos promotores de crescimento no mundo todo (BHATTACHARYYA; JHA, 2012; PII *et al.*, 2015). A inoculação em arroz (*Oryza sativa* L.) tem proporcionado diversos resultados

benéficos, como aumento no crescimento, na absorção de nutrientes, na produtividade e a resistência contra patógenos (ARAÚJO *et al.*, 2013; PRIYA *et al.*, 2015).

O arroz é uma das culturas alimentares mais importantes do mundo, fazendo parte da alimentação de, aproximadamente, 50% da população mundial (TAN; NORHAIZAN, 2020). É componente da base alimentar brasileira, sendo que o país é o 9º maior produtor mundial, tendo produzido mais de 11 milhões de toneladas em 2020 (FAO, 2022).

Em geral, são considerados dois grandes ecossistemas para a cultura do arroz, o de várzeas e o de terras altas, com uma área cultivada de aproximadamente 150 milhões de ha em todo o mundo. Embora grande parte da produção deste cereal no Brasil provenha de áreas irrigadas por inundação nos estados do sul, onde a produtividade é significativamente superior, o arroz cultivado no sistema de terras altas tem contribuído de forma significativa na produção nacional. O arroz cultivado nesse sistema vem aumentando sua produtividade gradualmente e tem capacidade de expandir-se para áreas de pastagens degradadas e fazer parte do sistema de rotação com outras culturas anuais (YAMASHITA, 2013). Neste sistema, o arroz pode ser cultivado com irrigação suplementar por aspersão ou sem irrigação, ou seja, a disponibilidade de água para a cultura é totalmente dependente da ocorrência de chuvas (ESTEVÃO *et al.*, 2015).

O arroz de terras altas cobre 9% da área total cultivada de arroz na Ásia, enquanto compartilha a maior parte da área cultivada na África Ocidental e na América Latina. Neste sistema, a deficiência nutricional é um fator importante que pode levar à baixa produtividade da cultura, sendo a deficiência de fósforo (P) mais comum neste sistema de cultivo, devido à seca imprevisível e à alta fixação de P no solo (RAWAT; SHANKHDHAR; SHANKHDHAR, 2021).

O P é extremamente importante para o crescimento e desenvolvimento do arroz, sendo fator limitante para o perfilhamento e, conseqüentemente, o rendimento da cultura (CRUSCIOL; SORATTO; ARF, 2007; LONG *et al.*, 2018). De todo o P absorvido pelas plantas de arroz, 65% é exportado pelos grãos, o que torna a cultura uma importante fonte deste nutriente na alimentação humana (FAGERIA, 2006).

Embora os MPCP sejam extensivamente estudados quanto à eficácia da inoculação e possíveis contribuições para o crescimento e produtividade do arroz, poucos estudos suportam a hipótese de que o uso do BSF poderia permitir reduções viáveis no uso de fertilizantes químicos. Diante do exposto, a pesquisa envolvendo a seleção de BSF e sua inoculação em arroz constitui um dos principais meios para a prevenção contra possíveis crises no suprimento de P e alimentar.

REFERÊNCIAS

- ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, n. 971, p.1-8, 2017.
- ANZUAY, M. S.; LUDUEÑA, L. M.; ANGELINI, J. G.; FABRA, A.; TAURIAN, T. Beneficial effects of native phosphate solubilizing bacteria on peanut (*Arachis hypogaea* L) growth and phosphorus acquisition. **Symbiosis**, Dordrecht, v. 66, n. 2, p. 89-97, jun. 2015.
- ARAÚJO, A. E. S. *et al.* Response of traditional upland rice varieties to inoculation with selected diazotrophic bacteria isolated from rice cropped at the Northeast region of Brazil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 64, n. 1, p.49-55, fev. 2013.
- ARAÚJO, A. P.; MACHADO, C. T. T. Fósforo. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 253-273.
- BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 28, n. 4, p.1327-1350, 2012.
- BHISE, K. K.; DANDGE, P. B. Alleviation of salinity stress in rice plant by encapsulated salt tolerant plant growth promoting bacteria *Pantoea agglomerans* strain KL and its root colonization ability. **Archives of Agronomy and Soil Science**, Abingdon, v. 65, n. 14, p. 1955-1968, mar. 2019.
- BORHAM, A.; BELAL, E.; METWALY, M.; EL-GREMY, S. Phosphate Solubilization by *Enterobacter cloacae* and its Impact on Growth and Yield of Wheat Plants. **Journal of Sustainable Agricultural Sciences**, Kafr el-Sheikh, Egito, v. 43, n. 2, p. 89-103, jul. 2017.
- BRASIL. L. C. Hernani. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. **Sistema plantio direto**: microrganismos. Microrganismos. 2022. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/sistema_plantio_direto/arvore/CONT000fwuzxobq02wyiv807fiqu9mw1rx0t.html. Acesso em: 20 fev. 2022.
- CARPENTER, S. R.; BENNETT, E. M. Reconsideration of the planetary boundary for phosphorus. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 6, n. 1, p.1-12, fev. 2011.
- CHERIF-SILINI, H.; THISSERA, B.; BOUKET, A. C.; SAADAOU, N.; SILINI, A.; ESHELLI, M.; ALENEZI, F. N.; VALLAT, A.; LUPTAKOVA, L.; YAHIAOUI, B.; CHERRAD, S.; VACHER, S.; RATEB E. M.; BELBAHRI, L. Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *Pantoea agglomerans* with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 16, p. 1-36, ago. 2019.
- CORDELL, D.; DRANGERT, J. O.; WHITE, S. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. **Global Environmental Change**, Amsterdam, v. 19, n. 2, p.292-305, maio 2009.

CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, R. P.; ARF, O. Produtividade de grãos e exportação de nutrientes de cultivares de arroz irrigadas por aspersão em consequência da época de semeadura. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 2, p.247-257, 2007.

ELHAISSOUFI, W.; KHOURCHI, S.; IBNYASSER, A.; GHOUAM, C.; RCHIAD, Z.; ZEROUAL, Y.; LYAMLOULI, K.; BARGAZ, A. Phosphate solubilizing rhizobacteria could have a stronger influence on wheat root traits and aboveground physiology than rhizosphere P solubilization. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 11, n. 1, p. 1-15, jul. 2020.

FAGERIA, N. K. Adubação e calagem. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (ed.). **A Cultura do arroz no Brasil**. 2 ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa arroz e feijão, 2006. p. 387- 423.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES - FAO.

Rankings: countries by commodity. 2018. Disponível em:

https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity. Acesso em: 11 abr. 2022.

GOUDA, S.; KERRY, R. G.; DAS, G.; PARAMITHIOTIS, S.; SHIN, H. S.; PATRA, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 206, n. 1, p.131-140, 2018.

GRANT, C. A. *et al.* A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. **Potafos: Informações Agronômicas**, Piracicaba, v. 95, p.1-5, set. 2001.

IRFAN, M.; AZIZ, T.; MAQSOOD, M. A.; BILAL, H. M.; SIDDIQUE, K. H. M.; XU, M. Phosphorus (P) use efficiency in rice is linked to tissue-specific biomass and P allocation patterns. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 1-14, mar. 2020.

JI, S. H.; GURURANI, M. A.; CHUN, S.C. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 169, n. 1, p. 83-98, jan. 2014.

KHALIFA, A. Y. Z.; ALSYEEH, A. M.; ALMALKI, M. A.; SALEH, F.A. Characterization of the plant growth promoting bacterium, *Enterobacter cloacae* MSR1, isolated from roots of non-nodulating *Medicago sativa*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Amsterdam, v. 23, n. 1, p. 79-86, jan. 2016.

KOPPELAAR, R. H. E. M.; WEIKARD, H. P. Assessing phosphate rock depletion and phosphorus recycling options. **Global Environmental Change**, Amsterdam, v. 23, n. 6, p.1454-1466, dez. 2013.

KUMAR, A.; MAURYA, B.R.; RAGHUWANSHI, R. Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Amsterdam, v. 3, n. 4, p. 121-128, out. 2014.

LEE, K. E.; ADHIKARI, A.; KANG, S. M.; YOU, Y. H.; JOO, G. J.; KIM, J. H.; KIM, S. J.; LEE, I.J. Isolation and characterization of the high silicate and phosphate solubilizing novel strain *Enterobacter ludwigii* GAK2 that promotes growth in rice plants. **Agronomy**, Basel, v. 9, n. 3, p. 1-12, mar. 2019.

LI, X.; PENG, D.; ZHANG, Y.; JU, D.; C. GUAN. *Klebsiella* sp. PD3, a phenanthrene (PHE) - degrading strain with plant growth promoting properties enhances the PHE degradation and stress tolerance in rice plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Orlando, v. 201, n. 1, p. 1-15, set. 2020.

LIMA, M. V. I.; CLEMENTINO, L. S.; GONÇALVES, J. E. Aplicação biotecnológica de matrizes inorgânicas preparadas pelo processo sol-gel para imobilização das bactérias *Klebsiella oxytoca*. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 6., 2009, Maringá. **Anais [...]** Maringá: Centro Universitário de Maringá, 2009. v. 1, p. 1-7.

LONG, X. E.; YAO, H.; HUANG, Y.; WEI, W.; ZHU, Y. G. Phosphate levels influence the utilization of rice rhizodeposition carbon and the phosphate-solubilizing microbial community in a paddy soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 118, n. 1, p.103-114, 2018.

LÓPEZ-ARREDONDO, D. L. *et al.* Phosphate nutrition: Improving low- phosphate tolerance in crops. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 65, n. 1, p. 95-123, abr. 2014.

MEHNAZ, S.; MIRZA, M S.; HAURAT, J.; BALLY, R.; NORMAND, P.; BANO, A.; A MALIK, K. Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacteria from the rhizosphere of rice. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 47, n. 2, p. 110-117, fev. 2001.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B. **Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. 26 p. (Documentos 85).

NAUREEN, Z.; SHAM, A.; ASHRAM, H. A.; GILANI, S. A.; GHEILANI, S. A.; MABOOD, F.; HUSSAIN, J.; HARRASI, A. A.; ABUQAMAR, S. F. Effect of phosphate nutrition on growth, physiology and phosphate transporter expression of cucumber seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 127, n. 1, p.211-222, 2018.

NUSSAUME, L.; KANNO, S.; JAVOT, H.; MARIN, E.; POCHON, N.; AYADI, A.; NAKANISHI, T. M.; THIBAUD, M. C. Phosphate import in plants: focus on the PHT1 transporters. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 2, n. 1, p.1-12, 2011.

OBURGER, E.; JONES, D. L.; WENZEL, W. W. Phosphorus saturation and pH differentially regulate the efficiency of organic acid anion-mediated P solubilization mechanisms in soil. **Plant and Soil**, Berlin, v. 341, n. 1-2, p. 363-382, nov. 2010.

PANDA, B.; RAHMAN, H.; PANDA, J. Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of Eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens. **Rhizosphere**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p.62-71, 2016.

PAVINATO, P. S.; CHERUBIN, M. R.; SOLTANGHEISI, A.; ROCHA, G. C.; CHADWICK, D. R.; JONES, D. L. Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 1-11, set. 2020.

PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, N.; TERZANO, R.; CESCO, S.; CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 51, n. 4, p.403-415, 2015.

PRIYA, H. *et al.* Influence of cyanobacterial inoculation on the culturable microbiome and growth of rice. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 171, n. 1, p.78-89, fev. 2015.

RAJKUMARI, J.; SINGHA, L. P.; PANDEY, P. Genomic insights of aromatic hydrocarbon degrading *Klebsiella pneumoniae* AWD5 with plant growth promoting attributes: a paradigm of soil isolate with elements of biodegradation. **3 Biotech**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 1-22, fev. 2018.

RAJPUT, M. S.; IYER, B.; PANDYA, M.; JOG, R.; N. Kumar G.; RAJKUMAR, S. Derepression of mineral phosphate solubilization phenotype by insertional inactivation of *iclR* in *Klebsiella pneumoniae*. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 9, p. 1-15, set. 2015.

RASHID, M. I.; MUJAWAR, L. H.; SHAHZAD, T.; ALMEELBI, T.; ISMAIL, I. M.I.; OVES, M. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 183, n. 1, p. 26-41, fev. 2016.

RAWAT, P.; SHANKHDHAR, D.; SHANKHDHAR, S. C. Synergistic impact of phosphate solubilizing bacteria and phosphorus rates on growth, antioxidative defense system, and yield characteristics of upland rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, p. 1-13, jul. 2021.

RICHARDSON, A. E. *et al.* Plant mechanisms to optimize access to soil phosphorus. **Crop and Pasture Science**, Washington, v. 60, n. 2, p.124-143, fev. 2009.

RICHARDSON, A. E.; LYNCH, J. P.; RYAN, P. R.; DELHAIZE, E.; SMITH, F. A.; SMITH, S. E.; HARVEY, P. R.; RYAN, M. H.; VENEKLAAS, E. J.; LAMBERS, H.; OBERSON, A.; CULVENOR, R. A.; SIMPSON, R. J. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 349, n. 1-2, p.121-156, 2011.

RODRÍGUEZ-DÍAZ, M.; RODELAS-GONZALÉZ, B.; POZO-CLEMENTE, C.; MARTÍNEZ-TOLEDO, M. V.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. A Review on the taxonomy and possible screening traits of plant growth promoting rhizobacteria. In: AHMAD, I.; PICHTEL, J.; HAYAT, S. (ed.). **Plant-Bacteria Interactions: strategies and techniques to promote plant growth**. Wiley-Vch, 2008. Cap. 4. p. 55-80.

ROSLAN, M. A. M.; ZULKIFLI, N. N.; SOBRI, Z. M.; ZUAN, A. T. K.; CHEAK, S. C.; RAHMAN, N. A. A. Seed biopriming with P- and K-solubilizing *Enterobacter hormaechei* sp. improves the early vegetative growth and the P and K uptake of okra (*Abelmoschus esculentus*) seedling. **Plos One**, San Francisco, v. 15, n. 7, p. 1-41, jul. 2020.

- SACHDEV, D. P.; CHAUDHARI, H. G.; KASTURE, V. M.; DHAVALE, D. D.; CHOPADE, B. A. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing *Klebsiella pneumoniae* strains from rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum*) and their effect on plant growth. **Indian Journal of Experimental Biology**, New Delhi, v. 47, n. 1, p. 993-1000, dez. 2009.
- SHAHZAD, S. M.; ARIF, M. S.; RIAZ, M.; ASHRAF, M.; YASMEEN, T.; ZAHEER, A.; BRAGAZZA, L.; BUTTLER, A.; ROBROEK, B. J. M. Interaction of compost additives with phosphate solubilizing rhizobacteria improved maize production and soil biochemical properties under dryland agriculture. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 174, n. 1, p.70-80, 2017.
- SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springerplus**, Switzerland, v. 2, n. 1, p.1-14, 2013.
- SONG, T.; XU, F.; WEI, Y.; CHEN, M.; HU, Q.; TIAN, Y.; ZHANG, J.; XU, W. Combining alternate wetting and drying irrigation with reduced phosphorus fertilizer application reduces water use and promotes phosphorus use efficiency without yield loss in rice plants. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 223, n. 1, p.1-12, 2019.
- SOUZA, R.; BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; COSTA, P. B.; MEYER, J.; VARGAS, L. K.; SCHOENFELD, R.; PASSAGLIA, L. M. P. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in southern Brazilian fields. **Plant and Soil**, Berlin, v. 366, n. 1-2, p. 585-603, set. 2012.
- SPENCE, C.; ALFF, E.; JOHNSON, C.; RAMOS, C.; DONOFRIO, N.; SUNDARESAN, V.; BAIS, H. Natural rice rhizospheric microbes suppress rice blast infections. **Bmc Plant Biology**, London, v. 14, n. 1, p. 1-17, maio 2014.
- SUN, L.; YANG, Y.; WANG, R.; LI, S.; QIU, Y.; LEI, P.; GAO, J.; XU, H.; ZHANG, F.; LV, Y. Effects of exopolysaccharide derived from *Pantoea alhagi* NX-11 on drought resistance of rice and its efficient fermentation preparation. **International Journal of Biological Macromolecules**, New York, v. 162, n. 1, p. 946-955, nov. 2020.
- SUNGTHONGWISES K.; IWAI, C. B.; MATSUOKA, M.; OHNISHI, K.; TANAKA, S. Isolation of Phosphate-Solubilizing bacteria from different fields crop productions. **International Journal of Environmental and Rural Development**, Tokyo, v. 3, n. 1, p. 150-154, abr. 2012.
- TAN, B. L.; NORHAIZAN, M. E. **Rice by-products: phytochemicals and food products application**. Switzerland: Springer, 2020. 129 p.
- TOKPAH, D. P.; HONGWEI, L.; JOHN, T. N.; ZIPPORAH, P.; ZOGBO, L.; CHARLES, F. K.; MELISSA, S. S.; VICTOR, M. V. Biological control of potential antagonistic bacteria isolates to restrict *Magnaporthe grisea* infection on rice. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 11, n. 27, p. 1108-1119, jul. 2017.

VANCE, C. P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D. L. Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist**, Oxford, v. 157, n. 3, p.423-447, 2003.

WALPOLA, B. C.; ARUNAKUMARA, K. K. I. U.; MIN-HO, Y. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria (*Klebsiella oxytoca*) with enhanced tolerant to environmental stress. **African Journal of Microbiology Research**, Nairobi, v. 8, n. 31, p. 2970-2978, jul. 2014.

WANG, Y. *et al.* Response of soil microbes to a reduction in phosphorus fertilizer in rice-wheat rotation paddy soils with varying soil P levels. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 181, n. 1, p.127-135, set. 2018.

WELLMER, F. W.; SCHOLZ, R. W. Putting phosphorus first: The need to know and right to know call for a revised hierarchy of natural resources. **Resources**, Basel, v. 6, n. 2, p.1-23, jun. 2017.

WITHERS, P. J. A.; RODRIGUES, M.; SOLTANGHEISI, A.; CARVALHO, T. S.; GUILHERME, L. R. G.; BENITES, V. M.; GATIBONI, L. C.; SOUSA, D. M. G.; NUNES, R. S.; ROSOLEM, C. A.; ANDREOTE, F. D.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; COUTINHO, E. L. M.; PAVINATO, P. S. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, London, v. 8, n. 1, p.1-13, 2018.

YAMASHITA, A. S. T. **Doses e épocas de aplicação de etil-trinexapac em arroz de terras altas irrigado por aspersão**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2013.

3 **CAPÍTULO 1 – SELEÇÃO DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO**

RESUMO

As bactérias solubilizadoras de fosfato possuem a capacidade de liberar o fósforo (P) que está fixado no solo, permitindo sua absorção pelas plantas. Estas bactérias podem ser encontradas naturalmente no ambiente, tendo o solo como maior reservatório. Esta pesquisa teve por objetivo isolar e selecionar bactérias com potencial para solubilização de fosfato, bem como, avaliar os efeitos da inoculação dos isolados em sementes de arroz de terras altas. A partir de amostras de solo de 1) área conservada do bioma Amazônia, 2) área agrícola produtiva do bioma Cerrado e 3) área degradada com subsolo exposto do bioma Cerrado, foram obtidos 32 isolados solubilizadores. Destes, foram selecionados 3 isolados com capacidade de solubilização *in vitro* para fosfato de Ca e Fe, e início de solubilização precoce. Identificados como *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp., os isolados não apresentaram danos à sanidade de sementes de arroz, ou à germinação e emergência das plântulas, além de promoverem aumento do comprimento das raízes.

Palavras-chave: fósforo; solubilização; *Pantoea* sp.; *Enterobacter* sp.; *Klebsiella* sp.

ABSTRACT

Phosphate solubilizing bacteria have the ability to release phosphorus (P) that is fixed in the soil, allowing its absorption by plants. These bacteria can be found naturally in the environment, with the soil as the largest reservoir. This research aimed to isolate and select bacteria with potential for phosphate solubilization, as well as to evaluate the effects of inoculation of the isolates in upland rice seeds. From soil samples from 1) conserved area of the Amazon biome, 2) productive agricultural area of the Cerrado biome and 3) degraded area with exposed subsoil of the Cerrado biome, 32 solubilizing isolates were obtained. Of these, 3 isolates with *in vitro* solubilization capacity for calcium and iron phosphate, and early solubilization initiation, were selected. Identified as *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. and *Klebsiella* sp., the isolates did not damage the health of rice seeds, or the germination and emergence of seedlings, in addition to promoting an increase in the length of the roots.

Key-words: phosphorus; solubilization; *Pantoea* sp.; *Enterobacter* sp.; *Klebsiella* sp.

3.1 INTRODUÇÃO

A disponibilidade de nutrientes no solo é um dos fatores que determinam o crescimento e a produtividade das culturas. O fósforo (P) é um dos nutrientes aplicados em maior quantidade para o desenvolvimento das plantas, no entanto, possui alta fixação aos minerais do solo o que diminui sua disponibilidade para absorção. A baixa disponibilidade de P é um dos grandes problemas da agricultura atual (WHITERS *et al.*, 2018).

Existem micro-organismos no solo e na rizosfera de muitas plantas que podem contribuir para a aquisição de nutrientes, sendo considerados benéficos à agricultura pois podem ser isolados, multiplicados e devolvidos à rizosfera (inoculantes, biofertilizantes, biopesticidas, bioestimulantes) para estimular o crescimento das plantas por meio de mecanismos diretos e/ou indiretos (ELHAISSOUFI *et al.*, 2020). Dentre estes, as bactérias promotoras de crescimento de plantas são capazes de melhorar o desenvolvimento das culturas por meio de uma ampla variedade de mecanismos, entre eles a mineralização de matéria orgânica, o controle biológico de patógenos, a promoção do crescimento das raízes, a fixação biológica de N₂ e a solubilização de P (PII *et al.*, 2015).

O processo de solubilização é complexo e acontece devido a inúmeras alterações provocadas na rizosfera, entre elas a acidificação do solo por meio da liberação de ácidos orgânicos, exsudação de enzimas hidrolisantes e modulação da atividade microbiana rizosférica (ELHAISSOUFI *et al.*, 2020). As bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) têm sido consideradas alternativas seguras, economicamente viável e ambientalmente correta para viabilizar às plantas a absorção do P que está fixado ao solo. Estudos de seleção e inoculação destas bactérias têm trazido resultados positivos (PANDA; RAHMAN; PANDA, 2016; SHAHZAD, 2017), no entanto, encontrar isolados eficientes e adaptados às diversas culturas e sistemas de cultivo permanece um grande desafio.

Dessa forma, o objetivo da presente pesquisa foi prospectar BSF a partir do solo de diferentes áreas, selecionar, por meio de ensaios *in vitro* e identificar as cepas com maior potencial para utilização agrícola.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Isolamento e seleção de bactérias

Para o isolamento das BSF foram coletadas 4 amostras compostas de solo em três áreas com potencial para a existência deste tipo de micro-organismos, sendo: 1- área com solo não perturbado, pertencente ao bioma Amazônia, localizada na bacia do rio Teles Pires, no município de Paranaíta-MT; 2- área agrícola que não recebeu adubação fosfatada nos últimos cinco anos, sem queda na produtividade, localizada no bioma Cerrado, município de Selvíria-MS; 3- área degradada, com subsolo exposto que, em experimentos de recuperação anteriores, apresentou atividade microbiológica relacionada ao aumento no teor de P disponível, localizada no bioma Cerrado, município de Selvíria-MS.

A partir das amostras de solo foram realizadas diluições seriadas em solução salina estéril (NaCl 0,85%), seguidas por plaqueamento em meio de cultura GL sólido (glicose 10 g L⁻¹, extrato de levedura 2 g L⁻¹ e ágar 15g L⁻¹). Para testar a capacidade de solubilização dos isolados bacterianos foram preparados meios de cultura suplementados com fosfato de cálcio (CaHPO₄) ou fosfato de ferro (FePO₄), em quantidade equivalente a 0,89 g L⁻¹ de P (SYLVESTER-BRADLEY *et al.*, 1982; SILVA FILHO; VIDOR, 2000). Após o plaqueamento, as placas foram mantidas por 7 dias a 28 °C, sendo verificados diariamente o crescimento e a formação de halo transparente ao redor das colônias – que indica a solubilização do fosfato contido no meio (SOUCHIE; ABOUD, 2007). As colônias com o halo transparente foram repicadas individualmente, procedendo a purificação dos isolados.

Na sequência, uma colônia de cada isolado foi transferida para erlenmeyer contendo meio GL líquido (glicose 10 g L⁻¹ e extrato de levedura 2 g L⁻¹), sendo incubados por 24 h a 30 °C, sob agitação de 150 rpm, quando a densidade ótica de todos os inóculos foi ajustada para 1 em 600 nm (D.O.600) (ESTRADA *et al.*, 2012). Para a avaliação do diâmetro (Ø) das colônias e dos halos de solubilização, uma alíquota de 10 µL da cultura de cada isolado foi transferida para placas de Petri contendo o meio de cultura GL sólido, suplementado com as fontes de P. Em cada placa foram adicionadas 3 alíquotas, em pontos equidistantes, com 3 placas para cada isolado e para cada fonte de P. As placas foram mantidas a 28 °C por 15 dias, realizando-se medições em dias alternados.

O índice de solubilização (IS) foi calculado para cada isolado por meio da relação: IS = Ø halo (mm)/ Ø colônia (mm) (BERRAQUERO; BAYA; CORMENZANA, 1976). Com

base nestes índices os isolados foram classificados com baixa ($IS < 2$), média ($2 > IS < 4$) e alta ($IS > 4$) capacidade de solubilização. Ainda, de acordo com o início da solubilização, os isolados foram classificados como precoces, cujo início da atividade se deu até o terceiro dia; tardios, com o início da atividade a partir do terceiro dia; ou não solubilizadores, aqueles que não apresentaram atividade até o décimo quinto dia de avaliação (HARA; OLIVEIRA, 2004). Os isolados que apresentaram alta capacidade de solubilização, início precoce e capacidade de solubilizar as duas fontes de P foram considerados os melhores.

3.2.2 Teste de germinação e emergência de plântulas

Visando avaliar a influência dos isolados selecionados sobre a sanidade das plântulas, foram realizados testes de germinação e emergência com a inoculação em sementes de arroz cultivar BRS Esmeralda. Os inoculantes foram preparados com a multiplicação individual de cada BSF em meio de cultura GL líquido com incubação a 30 °C, sob agitação de 150 rpm por aproximadamente 18 h, atingindo a concentração mínima de $1,0 \times 10^9$ UFC mL⁻¹. A inoculação foi realizada em dose usualmente recomendada para inoculantes comerciais, com 100 mL para 50 kg de sementes.

Os testes de germinação foram instalados com a distribuição de 50 sementes inoculadas sobre duas folhas de papel “germitest” cobertas com mais uma folha e enroladas, com quatro repetições por isolado mais o tratamento controle (sem inoculação). As folhas de papel foram umedecidas com água deionizada, na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos de papel com as sementes foram acondicionados em sacos plásticos de polietileno transparente e mantidos à temperatura de 25 °C. As sementes e as plântulas foram avaliadas diariamente até a estabilização da germinação, aos 14 dias, quando foram contabilizadas as porcentagens de plântulas normais, anormais e sementes mortas (BRASIL, 2009).

Os testes de emergência foram instalados em caixas plásticas (40 x 15 x 8 cm) contendo substrato composto de areia, turfa, vermiculita e resíduo orgânico, com quatro repetições de 50 sementes por isolado mais o tratamento controle (sem inoculação). A semeadura foi realizada a 2 cm de profundidade. As caixas foram mantidas a temperatura ambiente mantendo a umidade do substrato por meio de irrigações diárias. A emergência das plântulas foi avaliada diariamente até sua estabilização, aos 14 dias, quando foram determinados a porcentagem de emergência de plântulas normais e anormais, o comprimento de parte aérea e raiz e o peso da massa fresca e massa seca da parte aérea e da raiz (BRASIL,

2009). O índice de velocidade de emergência (IVE) foi determinado para cada tratamento somando-se o número de plântulas emergidas a cada dia, divididas pelo número de dias transcorridos desde a semeadura, conforme proposto por Maguire (1962).

Os dados obtidos foram testados pela análise de variância, sendo aplicado o teste F a 5% de probabilidade para detectar diferenças entre os tratamentos. Quando encontradas diferenças, procedeu-se a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2019).

3.2.3 Análise molecular

Os isolados de BSF que não ocasionaram danos à germinação das sementes e à sanidade das plântulas seguiram para a análise molecular. Uma colônia de cada isolado foi transferida para erlenmeyer contendo meio GL líquido, onde foram mantidos por 24 h, a 30 °C, sob agitação a 150 rpm. Em seguida, procedeu-se a centrifugação de aproximadamente 2 mL da suspensão a 10.000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e a massa bacteriana resultante de cada isolado foi submetida à extração de DNA por meio do kit “GenElute™ Bacterial Genomic DNA Kits” (Sigma aldrich, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. Após a extração, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro NanoDrop® 2000c (Thermo Fisher Scientific, EUA) e diluído à concentração final de 25 ng μL^{-1} .

As reações de PCR foram conduzidas em volume total de 15 μL contendo 2,0 μL de DNA molde; 3,0 mM de MgCl_2 ; 0,6 mM de dNTPs; 0,6 μM de cada primer e 0,3 U da enzima Taq polimerase. Um controle negativo sem o DNA molde foi utilizado. As amplificações foram realizadas em termociclador ProFlex (Applied Biosystems, EUA) com as seguintes condições de ciclagem: desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos seguida de 35 ciclos a 95 °C por 30 segundos; anelamento a 65 °C por 1 minuto; extensão a 72 °C por 1 minuto; e extensão final a 72 °C por 7 minutos. A amplificação do 16s rDNA foi realizada com os primers universais P027F (5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e 1378R (5'-CGGTGTGTACAAGGCCCGGAACG-3'). Após a amplificação, 5 μL da reação de PCR foram avaliados por eletroforese em gel de agarose (1,0 %) em tampão 1x TBE (Tris HCl, ácido bórico e EDTA) e corado com azul de bromofenol.

Os produtos da PCR foram enviados para o Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica – CREBIO (Jaboticabal-SP) para sequenciamento em sequenciador automático

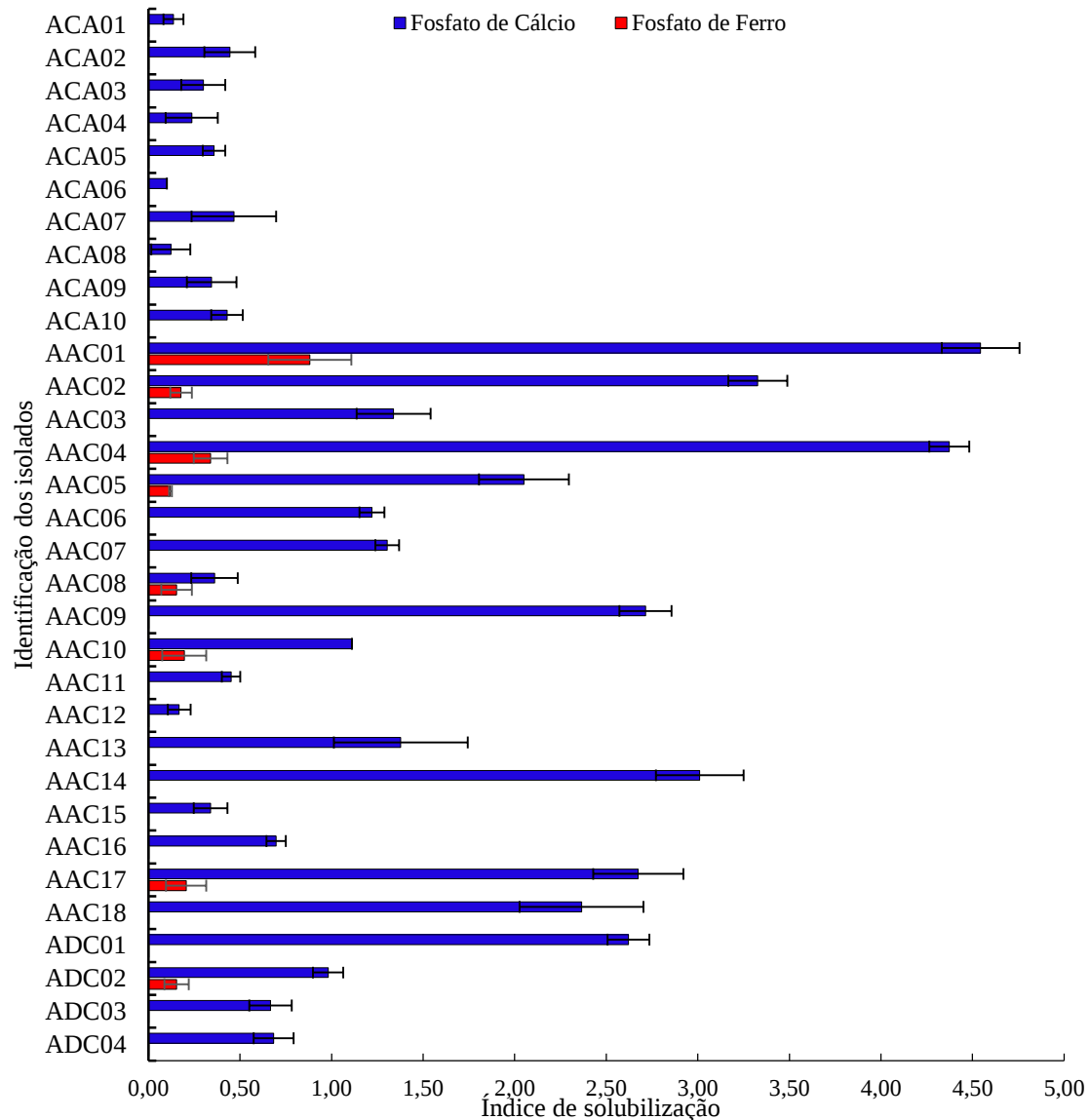
ABI 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, EUA). As sequências obtidas foram analisadas e alinhadas no programa Geneious R 9.0.5 (Biomatters, Nova Zelândia) e a identificação dos isolados feita por análise de similaridade com as sequências disponíveis nos bancos de dados do NCBI.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Isolamento e seleção de bactérias

Foram selecionados trinta e dois isolados bacterianos com potencial para a solubilização de fosfato, sendo dez isolados provenientes de área conservada em Paranaíta-MT (ACA), dezoito isolados de área agrícola em Selvíria-MS (AAC) e quatro isolados oriundos de área degradada em Selvíria-MS (ADC). Todos os isolados apresentaram capacidade para solubilizar fosfato de cálcio e apenas oito solubilizaram fosfato de ferro, equivalente a 25% dos isolados (Figura 2).

Figura 2. Índices de solubilização médios dos isolados selecionados em meio de cultura GL (glicose 10 g L⁻¹, extrato de levedura 2 g L⁻¹, ágar 15g L⁻¹) suplementado com fosfato de cálcio (SC) e fosfato de ferro (SF). Ilha Solteira-SP, 2018.



Nota: ACA- Área com solo não perturbado, pertencente ao bioma Amazônia, localizada na bacia do rio Teles Pires, no município de Paranaíta - MT; AAC- Área agrícola, localizada no bioma Cerrado, município de Selvíria- MS; ADC- Área degradada, com subsolo exposto, localizada no bioma Cerrado, município de Selvíria- MS. NS= Não solubilizante. Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Dentre as bactérias que solubilizaram fosfato de cálcio, 72% apresentaram baixa capacidade de solubilização ($IS < 2$). Um reduzido número de isolados (22%) mostrou capacidade mediana ($2 > IS < 4$) e apenas dois isolados (6%) exibiram alta capacidade de solubilização ($IS > 4$). Por sua vez, as bactérias que solubilizaram fosfato de ferro exibiram baixa capacidade de solubilização, ou seja, $IS < 2$ (Figura 2).

Resultados semelhantes foram reportados por Hara e Oliveira (2004) que, ao verificarem a capacidade de solubilização de fosfato por isolados bacterianos do solo, constataram que 39% dos isolados solubilizaram fosfato de cálcio. Destes, apenas um isolado se destacou pela alta capacidade de solubilização. É importante lembrar que, na presente pesquisa, o fato de todos os isolados terem solubilizado fosfato de cálcio (Figura 2) possivelmente se deu pela metodologia aplicada, pois os isolamentos foram realizados em meio de cultura contendo fosfato de cálcio, o que permite a seleção das bactérias que atuam sobre esta fonte. Avaliando o potencial solubilizador de bactérias e fungos e aplicando a metodologia adotada neste trabalho, os autores Silva Filho e Vidor (2000) concluíram que 98% dos isolados solubilizaram fosfato de cálcio e, embora nenhum tenha solubilizado fosfato de ferro, 11% apresentaram melhor crescimento na presença dessa fonte de P.

A dificuldade em encontrar micro-organismos mostrando altos ou médios índices de solubilização de fosfato de ferro, tem sido relatada, embora sejam escassos os trabalhos testando esta fonte de P. Estudando o potencial de solubilização de micro-organismos endofíticos da cultura do milho, Ribeiro *et al.* (2014) relataram que 42% dos isolados bacterianos solubilizaram fosfato de ferro, mas o IS foi baixo. Em estudo do potencial de solubilização para diferentes fontes de P por micro-organismos isolados de solo africano, Fankem *et al.* (2006) constataram solubilização de ferro por todas as bactérias avaliadas, mas apenas uma apresentou IS médio.

Os trinta e dois isolados estudados no presente trabalho foram classificados, de acordo com o início da solubilização em meio de cultura, em precoces, tardios e não solubilizadores (Tabela 1). Dos trinta e dois isolados que apresentaram capacidade para a solubilização de fosfatos de cálcio e de ferro, 72 e 16% exibiram, respectivamente, início da solubilização precoce. O tempo de início de solubilização está relacionado com a capacidade do micro-organismos se adaptar ao ambiente em que foi inserido (FANKEM *et al.*, 2016), sendo uma característica importante para a possível utilização do isolado em ambientes de cultivo agrícola.

Tabela 1. Classificação dos isolados de acordo com o local de isolamento (LI) e o início da solubilização em meio de cultura GL (glicose 10 g L⁻¹, extrato de levedura 2 g L⁻¹, ágar 15 g L⁻¹) suplementado com fosfato de cálcio (SC) e fosfato de ferro (SF). Ilha Solteira-SP, 2018.

Identificação do isolado	LI	SC	SF	Identificação do isolado	LI	SC	SF
ACA01	1	Precoce	NS	AAC07	2	Tardio	NS
ACA02	1	Tardio	NS	AAC08	2	Precoce	Tardio
ACA03	1	Precoce	NS	AAC09	2	Precoce	NS
ACA04	1	Precoce	NS	AAC10	2	Precoce	Precoce
ACA05	1	Precoce	NS	AAC11	2	Precoce	NS
ACA06	1	Precoce	NS	AAC12	2	Tardio	NS
ACA07	1	Tardio	NS	AAC13	2	Precoce	NS
ACA08	1	Tardio	NS	AAC14	2	Precoce	NS
ACA09	1	Precoce	NS	AAC15	2	Precoce	NS
ACA10	1	Precoce	NS	AAC16	2	Precoce	NS
AAC01	2	Precoce	Precoce	AAC17	2	Precoce	Tardio
AAC02	2	Precoce	Precoce	AAC18	2	Precoce	NS
AAC03	2	Precoce	NS	ADC01	3	Tardio	NS
AAC04	2	Precoce	Precoce	ADC02	3	Tardio	Tardio
AAC05	2	Precoce	Tardio	ADC03	3	Tardio	NS
AAC06	2	Precoce	NS	ADC04	3	Tardio	NS

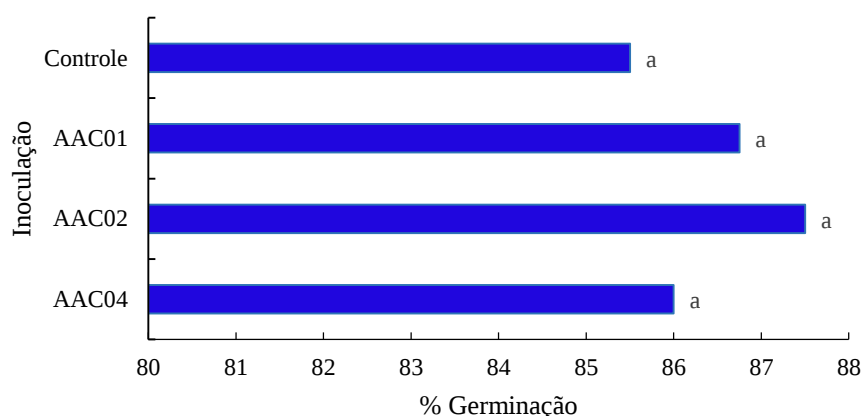
Nota: ACA- Área com solo não perturbado, pertencente ao bioma Amazônia, localizada na bacia do rio Teles Pires, no município de Paranaíta - MT; AAC- Área agrícola, localizada no bioma Cerrado, município de Selvíria- MS; ADC- Área degradada, com subsolo exposto, localizada no bioma Cerrado, município de Selvíria- MS. NS= Não solubilizante. Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Apenas os isolados AAC01 e AAC04 apresentaram alta capacidade de solubilização para fosfato de cálcio, apresentando, também, capacidade para a solubilização de fosfato de ferro, além de início de solubilização precoce para ambas as fontes (Tabela 1). Entre os isolados com média capacidade de solubilização para o fosfato de cálcio, AAC02, AAC05 e AAC17 também foram capazes de solubilizar fosfato de ferro. Dentre esses, AAC02 demonstrou início de solubilização precoce para as duas fontes de P. Desta forma, de acordo com a metodologia estabelecida, AAC01, AAC02 e AAC04, obtidos de solo agrícola de Cerrado, foram considerados os isolados com o maior potencial para solubilização de P.

3.3.2 Teste de germinação sementes e emergência de plântulas de arroz

O teste de germinação de sementes de arroz cultivar BRS Esmeralda, inoculadas com os três isolados selecionados de BSF retornou médias para a germinação acima de 85% para todos os isolados, não diferindo estatisticamente das sementes não inoculadas (Figura 3). Os valores médios para todos os tratamentos se encontram acima do limite mínimo de germinação de 80%, de acordo com os padrões nacionais e estabelecido para a comercialização de sementes de arroz (UTINO *et al.*, 2020).

Figura 3. Valores médios para a germinação de sementes de arroz, cultivar BRS Esmeralda, inoculados com os isolados AAC01, AAC02 e AAC04, ou sem inoculação (controle).



Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Ilha Solteira-SP, 2018. Fonte: elaborado pelo próprio autor.

A porcentagem de emergência de plântulas também foi superior a 80% para todos os tratamentos (Tabela 2). Não foram observadas diferenças significativas entre o tratamento controle e os tratamentos com inoculação de BSF para o comprimento de parte aérea, massa fresca e massa seca de parte aérea e massa seca de raiz das plântulas. Este resultado, associado ao fato de não terem sido observadas plântulas anormais ou sementes danificadas em nenhum dos tratamentos, tanto no teste de germinação quanto no teste de emergência, indica que não houve prejuízo à sanidade das sementes e plântulas em função da inoculação das BSF.

Tabela 2. Valores médios para a emergência de plântulas (EP), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca de parte aérea (MSPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de raiz (MSR) e índice de velocidade de emergência (IVE) de arroz cultivar BRS Esmeralda, em função da inoculação de bactérias solubilizadoras de fosfato (AAC01, AAC02 e AAC04) e sem inoculação (controle). Ilha Solteira-SP, 2019.

Fontes de variação	EP -- % --	CPA ----- cm -----	CR	MFPA	MFR	MSPA	MSR	IVE
					----- g -----			
Controle	81,5	17,20	6,63b	0,62	0,32b	0,13	0,05	10,98
AAC01	84,5	18,09	7,10ab	0,70	0,33b	0,14	0,05	11,82
AAC02	87,0	20,74	7,38ab	0,89	0,38b	0,13	0,05	11,48
AAC04	85,0	20,22	8,30a	0,80	0,62a	0,15	0,06	12,18
Valor de F	0,637 ^{ns}	3,121 ^{ns}	3,223*	1,705 ^{ns}	3,742*	2,206 ^{ns}	2,279 ^{ns}	2,385 ^{ns}
Média geral	84,5	19,06	7,35	0,75	0,41	0,14	0,05	11,61
C.V. (%)	6,74	9,19	10,64	13,61	13,19	7,27	6,91	5,70

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns}= não significativo. * significativos a 1% de probabilidade pelo teste F. C.V.= coeficiente de variação.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

A inoculação do isolado AAC04 acarretou em aumentos no comprimento e na massa fresca de raiz em relação ao controle (Tabela 2). A promoção do crescimento de raízes e de pelos laterais é reconhecida como um dos mecanismos de ação das BSF e tem sido associada a mudanças na composição e concentração de hormônios vegetais envolvidos na regulação da arquitetura da raiz. Muitas BSF podem ter maior efeito sobre as características biofísicas da planta, o que reflete em maior absorção de nutrientes pelas raízes, do que na solubilização de P propriamente dita (SHARMA *et al.*, 2013; ELHAISSOUFI *et al.*, 2020).

O aumento do comprimento e da massa fresca da raiz promovido pela inoculação do isolado AAC04 indica que houve melhor utilização das reservas da semente em relação ao tratamento controle. A eficiência da conversão das reservas em tecido é um fator importante, pois influencia o crescimento vigoroso da muda, produzindo plantas de qualidade superior e aumentando sua adaptabilidade e estabilidade de cultivo (CHENG *et al.*, 2013).

Os valores encontrados para o índice de velocidade de emergência (IVE) variaram de 10,98 a 12,18, não diferindo entre o tratamento controle e os demais tratamentos. Estes

valores estão de acordo aos de Tunes, Tavares e Barros (2012) que, avaliando o vigor de cinco lotes de sementes de arroz de terras altas, verificaram o IVE entre 8,7 e 12,3. Em estudo sobre a qualidade de sementes de diferentes cultivares de arroz de terras altas, Santos *et al.* (2015) obtiveram altos IVE para o arroz cultivar BRS Esmeralda, sendo considerado de alta qualidade fisiológica. Quanto maior o índice, menor a sensibilidade da planta às condições adversas que ocorrem durante o desenvolvimento em campo (NAKAGAWA, 1999), sendo considerado de grande importância para a seleção de cultivares.

3.3.3 Análise molecular

Com base na árvore filogenética construída a partir de sequências de rRNA 16S, as cepas selecionadas pertencem aos gêneros *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp., com 97, 99 e 99% de similaridade, respectivamente (Tabela 3).

A capacidade de solubilização de P por bactérias dos gêneros *Pantoea*, *Enterobacter* e *Klebsiella* isoladas a partir de amostras de solo já foi relatada. A cepa *Pantoea* sp. D2Ss73 foi associada por Solanki *et al.* (2020) ao aumento dos teores de P total, nitrogênio e potássio em solo cultivado com cana-de-açúcar consorciada com amendoim e soja. Em experimentos *in vitro*, Khan *et al.* (2015), concluíram que o isolado *Enterobacter* sp. HU38 possui a capacidade de solubilização de P, de produção de sideróforos e do hormônio vegetal ácido indolacético (AIA). A cepa também exibiu tolerância a metais pesados (arsênio, chumbo, cádmio e zinco) e promoção do crescimento de plantas de Azevém. Avaliando o potencial de isolados bacterianos sobre o crescimento de cana-de-açúcar, Lin *et al.* (2012), relataram que a cepa *Klebsiella* sp. LC55S foi capaz de solubilizar P, produzir sideróforos e AIA.

Tabela 3. Identificação dos isolados de acordo com análise de similaridade com as sequências dos bancos de dados do NCBI.

Isolado	Cepa	Similaridade	Referência
AAC01	<i>Pantoea</i> sp. D2Ss73	97%	Solanki <i>et al.</i> (2020)
AAC02	<i>Enterobacter</i> sp. HU38	99%	Khan <i>et al.</i> (2015)
AAC04	<i>Klebsiella</i> sp. LC55S	99%	Lin <i>et al.</i> (2012)

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Pesquisando bactérias promotoras de crescimento de plantas, Cherif-Silini *et al.* (2019) obtiveram isolado do gênero *Pantoea* que promoveu considerável crescimento de

plantas de trigo, com aumento do acúmulo de P, K e teor de clorofila das plantas, da concentração de AIA e diversos metabólitos secundários benéficos.

A inoculação de isolado de *Enterobacter* sp. solubilizadora de P foi avaliada por Borham *et al.* (2017) em plantas de trigo, constatando-se aumento da altura e massa das plantas, da área foliar, do índice de clorofila, e do número e peso de grãos. Verificando o potencial de solubilização de P em 18 isolados do gênero *Enterobacter* sobre plantas de quiabo, Roslan *et al.* (2020) observaram maior crescimento das plantas e aumento dos teores de P no solo e nas plantas, concluindo que o uso agrícola de *Enterobacter* sp. era promissor.

Em arroz de terras altas, Li *et al.* (2020) verificaram que a inoculação de *Klebsiella* sp. aumentou significativamente a concentração de P-disponível no solo e a produção de fito hormônios, além de melhorar os parâmetros fotossintéticos das plantas. Da mesma forma, Eke *et al.* (2019) constataram que bactéria do gênero *Klebsiella* solubilizou fosfato no solo e promoveu o crescimento de plantas de tomate.

A literatura voltada para a utilização agrícola destes três gêneros bacterianos é recente, e escassa, abrangendo poucas culturas e ambientes de cultivo pouco diversos. Trata-se de micro-organismos emergentes na agricultura e que devem ser avaliados como uma alternativa promissora para os sistemas agrícolas.

3.4 CONCLUSÕES

A prospecção de bactérias solubilizadoras de fosfato permitiu selecionar três isolados com alto potencial para uso agrícola. Identificadas como *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp., estas apresentaram capacidade de solubilização *in vitro* para fosfato de cálcio e de ferro, não ocasionaram danos às sementes de arroz ou à germinação e emergência das plântulas, além de terem aumentado o comprimento e a massa fresca das raízes de plântulas arroz de terras altas.

REFERÊNCIAS

- BERRAQUERO, F. R.; BAYA, B.; CORMENZANA, A. R. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **Ars Pharmaceutica**, Granada, v. 17, n. 4, p.399-406, 1976.
- BORHAM, A.; BELAL, E.; METWALY, M.; EL-GREMY, S. Phosphate solubilization by *Enterobacter cloacae* and its impact on growth and yield of wheat plants. **Journal of Sustainable Agricultural Sciences**, Kafr el-Sheikh, Egito, v. 43, n. 2, p. 89-103, jul. 2017.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO- MAPA. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA, 2009. 395 p.
- CHENG, X.; CHENG, J.; HUANG, X.; LAI, Y.; WANG, L.; DU, W.; WANG, Z.; ZHANG, H. Dynamic quantitative trait loci analysis of seed reserve utilization during three germination stages in rice. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 11, p. 1-11, nov. 2013.
- CHERIF-SILINI, H.; THISSERA, B.; BOUKET, A. C.; SAADAOUI, N.; SILINI, A.; ESHELLI, M.; ALENEZI, F. N.; VALLAT, A.; LUPTAKOVA, L.; YAHIAOUI, B.; CHERRAD, S.; VACHER, S.; RATEB E. M.; BELBAHRI, L. Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *Pantoea agglomerans* with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 20, n. 16, p. 1-36, ago. 2019.
- EKE, P.; KUMAR, A.; SAHU, K. P.; WAKAM, L. N.; SHEORAN N.; ASHAJYOTHI, M.; PATEL, A.; FEKAM, F. B. Endophytic bacteria of desert cactus (*Euphorbia trigonas* Mill) confer drought tolerance and induce growth promotion in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Microbiological Research**, New York, v. 228, n. 1, p. 1- 15, nov. 2019.
- ELHAISSOUFI, W.; KHOURCHI, S.; IBNYASSER, A.; GHOULAM, C.; RCHIAD, Z.; ZEROUAL, Y.; LYAMLOULI, K.; BARGAZ, A. Phosphate solubilizing rhizobacteria could have a stronger influence on wheat root traits and aboveground physiology than rhizosphere P solubilization. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 11, n. 1, p. 1-15, jul. 2020.
- ESTRADA, G. A.; BALDANI, V. L. D.; OLIVEIRA, D. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 369, n. 1-2, p.115-129, 2012.
- FANKEM, H.; MAFOKOUA, H. L.; NKOT, L. N.; SIMO, C.; DONDJOU, D. T.; TCHAKOUNTE, G. V. T.; NWAGA, D.; ETOA, F. X. Biodiversity of the phosphate solubilizing microorganisms (PSMs) population from the rice rhizosphere soils of the two agroecological zones of Cameroon. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, Cameroon, v. 9, n. 5, p.2284-2299, 2016.
- FANKEM, H.; NWAGA, D.; DEUBEL, A.; DIENG, L.; MERBACH, W.; ETOA, F. X. Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (*Elaeis guineensis*) rhizosphere in Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 5, n. 24, p.2450-2460, 2006.

FERREIRA, D. F. SISVAR. A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, Lavras, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álcalis de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 34, n. 3, p.343-357, 2004.

HERNÁNDEZ, M.; DUMONT, M. G.; YUAN, Q.; CONRAD, R. K. Different bacterial populations associated with the roots and rhizosphere of rice incorporate plant-derived carbon. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 81, n. 6, p. 2244-2253, mar. 2015.

KHAN, M. U.; SESSITSCH, A.; HARRIS, M.; FATIMA, K.; IMRAN, A.; ARSLAN, M.; SHABIR, G.; KHAN, Q. M.; AFZAL, M. Cr-resistant rhizo- and endophytic bacteria associated with *Prosopis juliflora* and their potential as phytoremediation enhancing agents in metal-degraded soils. **Frontiers In Plant Science**, Lausanne, v. 5, n. 755, p. 1-10, jan. 2015.

LI, X.; PENG, D.; ZHANG, Y.; JU, D.; C. GUAN. *Klebsiella* sp. PD3, a phenanthrene (PHE) - degrading strain with plant growth promoting properties enhances the PHE degradation and stress tolerance in rice plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Orlando, v. 201, n. 1, p. 1-15, set. 2020.

LIN, L.; LI, Z.; HU, C.; ZHANG, X.; CHANG, S.; YANG, L.; LI, Y.; AN, Q. Plant growth-promoting nitrogen-fixing Enterobacteria are in association with sugarcane plants growing in Guangxi, China. **Microbes and Environments**, Ibaraki, v. 27, n. 4, p. 391-398, abr. 2012.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, New York, v.2, n.2, p.176-77, 1962.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA R. D.; MARCOS FILHO, J.; FRANÇA NETO J. B. (eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p. 1-21.

PANDA, B.; RAHMAN, H.; PANDA, J. Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of Eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens. **Rhizosphere**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p.62-71, 2016.

PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, N.; TERZANO, R.; CESCO, S.; CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 51, n. 4, p.403-415, 2015.

RIBEIRO, V. P.; ALMEIDA, C. N. S.; MATTOS, B. B.; OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A.; MARRIEL, I. E. Potencial de solubilização de fosfato de ferro in vitro e produção de sideróforos por microrganismos endofíticos da cultura de Milho. In: FERTBIO, 2014, Araxá. **Anais [...]**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2014. 1 p.

ROSLAN, M. A. M.; ZULKIFLI, N. N.; SOBRI, Z. M.; ZUAN, A. T. K.; CHEAK, S. C.; RAHMAN, N. A. A. Seed biopriming with P- and K-solubilizing *Enterobacter hormaechei* sp. improves the early vegetative growth and the P and K uptake of okra (*Abelmoschus esculentus*) seedling. **Plos One**, San Francisco, v. 15, n. 7, p. 1-41, jul. 2020.

SANTOS, H. O.; BOTELHO, F. B. S.; FONSECA, A. C. A.; UENOJO, R. K.; MENDES, M. P.; PINHO, E. V. R. V. Quality of seeds of upland rice lines adapted to the state of Minas Gerais, Brazil. **American Journal of Plant Sciences**, San Luis, Missouri, v. 06, n. 12, p. 1920-1927, ago. 2015.

SHAHZAD, S. M.; ARIF, M. S.; RIAZ, M.; ASHRAF, M.; YASMEEN, T.; ZAHEER, A.; BRAGAZZA, L.; BUTTLER, A.; ROBROEK, B. J. M. Interaction of compost additives with phosphate solubilizing rhizobacteria improved maize production and soil biochemical properties under dryland agriculture. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 174, n. 1, p.70-80, 2017.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springerplus**, Switzerland, v. 2, n. 1, p.1-14, 2013.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fostatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, n. 2, p.311-319, 2000.

SOLANKI, M. K.; WANG, Z.; WANG, F. Y.; LI, C. N.; GUPTA, C. L.; SINGH, R. K.; MALVIYA, M. K.; SINGH, P.; YANG, L. T.; LI, Y. R. Assessment of diazotrophic proteobacteria in sugarcane rhizosphere when intercropped with legumes (peanut and soybean) in the field. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 11, n. 1, p. 1-12, jul. 2020.

SOUCHIE, E. L.; ABBOUD, A. C. S. Solubilização de fosfato por microrganismos rizosféricos de genótipos de Guandu cultivados em diferentes classes de solo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p.11-18, 2007.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F.M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 12, n. 1, p.15-22, 1982.

TUNES, L. M.; TAVARES, L. C.; BARROS, A. C. S. A. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de arroz. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, n. 1, p. 120-127, jun. 2012.

UTINO, S.; FRANCO, D. F.; COSTA, S. V.; MAGALHÃES, A. M.; PETERS, V. J.; SILVA, M. G. **Produção de sementes**. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000foh66zuv02wyiv8065610dhn0auj1.html>. Acesso em: 20 maio 2021.

WITHERS, P. J. A.; RODRIGUES, M.; SOLTANGHEISI, A.; CARVALHO, T. S.; GUILHERME, L. R. G.; BENITES, V. M.; GATIBONI, L. C.; SOUSA, D. M. G.; NUNES, R. S.; ROSOLEM, C. A.; ANDREOTE, F. D.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; COUTINHO, E. L. M.; PAVINATO, P. S. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, London, v. 8, n. 1, p.1-13, 2018.

4 CAPÍTULO 2 – ENSAIO EM CASA DE VEGETAÇÃO

RESUMO

As bactérias solubilizadoras de fosfato tem sido consideradas alternativa segura e viável para liberar o fósforo (P) que se encontra fixado no solo, tornando-o disponível para a absorção pelas plantas. No entanto, encontrar isolados adaptados às diversas culturas e sistemas de cultivo permanece um grande desafio. Esta pesquisa teve por objetivo avaliar o potencial de bactérias solubilizadoras em disponibilizar P no solo, bem como, os efeitos da inoculação sobre plantas de arroz de terras altas. A pesquisa foi feita por meio de ensaio em casa de vegetação, em esquema fatorial 4 x 3 para as avaliações entre os tratamentos, e 4 x 3 + 2 para as comparações dos tratamentos às testemunhas, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de quatro doses de P (0; 23,3; 46,6 e 70 kg ha⁻¹), na forma de superfosfato simples, baseadas na utilização de 0, 1/3, 2/3 e 3/3 da dose recomendada para arroz de terras altas, com a inoculação via sementes com três isolados de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF), *Pantoea* sp.; *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp. Os tratamentos testemunha consistiram na aplicação de duas doses de P equivalentes a 0 e 70 kg ha⁻¹, sem inoculação. *Klebsiella* sp. aumentou a concentração de P do solo, a respiração basal do solo, o comprimento de raiz, a massa fresca de parte aérea, e massa fresca e seca da raiz, com redução de adubação fosfatada. Elevou, ainda, o teor de P nas raízes das plantas independente das doses de P utilizadas. A inoculação de *Enterobacter* sp. aumentou a respiração basal do solo e a massa fresca de parte aérea, e a inoculação de *Pantoea* sp. aumentou a massa fresca da raiz, ambas com redução de adubação fosfatada. As doses de P aplicadas ao solo aumentaram o teor de P nas raízes, a massa seca de parte aérea e a altura das plantas de arroz.

Palavras- chave: solubilização de fosfato; fósforo; *Pantoea* sp.; *Enterobacter* sp.; *Klebsiella* sp.

ABSTRACT

Phosphate solubilizing bacteria have been considered a safe and viable alternative to release phosphorus (P) that is fixed in the soil, making it available for plant uptake. However, finding isolates adapted to different cultures and cultivation systems remains a major challenge. This research aimed to evaluate the potential of solubilizing bacteria to make P available in the

soil, as well as the effects of inoculation on upland rice plants. The research was carried out using a greenhouse test, in a 4 x 3 factorial scheme for the evaluations between treatments, and 4 x 3 + 2 for the comparisons of treatments to controls, with four replications. The treatments consisted of the combination of four doses of P with simple superphosphate (0; 23.3; 46.6 and 70 kg ha⁻¹), based on the use of 0, 1/3, 2/3 and 3/3 of the recommended dose for upland rice, with inoculation via seeds with three isolates of phosphate solubilizing bacteria (BSF), *Pantoea* sp.; *Enterobacter* sp. and *Klebsiella* sp. The control treatments consisted of the application of two doses of P equivalent to 0 and 70 kg ha⁻¹, without inoculation. *Klebsiella* sp. increased soil P concentration, basal soil respiration, root length, shoot fresh mass, and root fresh and dry mass, with reduced phosphate fertilization. It also increased the P content in plant roots regardless of the P doses used. The inoculation of *Enterobacter* sp. increased soil basal respiration and shoot fresh mass, and the inoculation of *Pantoea* sp. increased root fresh mass, both with reduced phosphate fertilization. The doses of P applied to the soil increased the P content in the roots, the shoot dry mass and the height of the rice plants.

Key-words: phosphate solubilization; phosphorus; *Pantoea* sp.; *Enterobacter* sp.; *Klebsiella* sp.

4.1 INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é considerado o segundo nutriente mais limitante ao desenvolvimento das plantas, depois do nitrogênio (N), pois o P está envolvido no fornecimento, transferência e armazenamento de energia para todos os processos bioquímicos (STEPHEN *et al.*, 2015). No entanto, existem alguns problemas associados ao uso do P pelas plantas que tem sido foco de diversas pesquisas nos últimos anos.

Grande parte dos solos de todo o mundo são deficientes em P disponível, fazendo com que seja necessária a adição deste nutriente ao solo para o cultivo agrícola. Contudo, a maior parte do P adicionado via adubação pode ser adsorvida à superfície de minerais secundários do solo, particularmente nos óxidos e hidróxidos de alumínio, ferro e cálcio, tornando-se indisponível (não-lábil) para absorção pelas plantas (KUMAR; MAURYA; RAGHUWANSHI, 2014). O resultado desta prática são solos onde a quantidade de P total é alta, enquanto o P-lábil é insuficiente para o desenvolvimento das culturas.

Em geral, as plantas possuem dois mecanismos para maximizar a absorção de P, sendo aumento de biomassa radicular com a produção de pelos e raízes laterais, o que permite explorar maior volume de solo para a absorção de nutrientes, e a melhoria da eficiência no uso de P (SONG *et al.*, 2019). Neste sentido, o manejo do P mediado por micro-organismos tem ganhado atenção prática, por induzir e contribuir diretamente com os mecanismos para obtenção de P pelas plantas.

As bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) têm sido uma alternativa estratégica para disponibilizar às plantas parte do P que está fixado ao solo de forma ecologicamente correta e economicamente viável. As BSF possuem a capacidade de liberar o P por meio da liberação de ácidos orgânicos como glucônico, propiônico, cítrico e oxálico. Além disso, muitas BSF também são capazes de produzir sideróforos, enzimas e de induzir a síntese de fitohormônios nas plantas, considerados mecanismos indiretos de disponibilização de P (RAWAT; SHANKHDHAR; SHANKHDHAR, 2021).

O arroz (*Oryza sativa* L.), cereal de grande importância por servir como base para a alimentação de cerca de um terço da população mundial (IRFAN *et al.*, 2020). O P é imprescindível ao crescimento e desenvolvimento do arroz, sendo fator limitante para o perfilhamento e, conseqüentemente, para o rendimento da cultura (CRUSCIOL; SORATTO; ARF, 2007). De todo o P absorvido pelas plantas de arroz, 65% é exportado pelos grãos, o que torna a cultura uma importante fonte deste nutriente na alimentação humana (FAGERIA, 2006). Estabelecer mecanismos sustentáveis para o suprimento de P nesta cultura constitui importante ferramenta para a produção agrícola global.

A inoculação das sementes de arroz com BSF poderia proporcionar um melhor suprimento de P à cultura, melhorando o aproveitamento dos insumos adicionados e garantindo o fornecimento deste às plantas. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da inoculação de bactérias solubilizadoras de fosfato selecionadas, juntamente com doses de P, sobre arroz de terras altas cultivar BRS Esmeralda.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na UNESP - Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, no município de Ilha Solteira- SP entre dezembro de 2019 e março de 2020. As unidades experimentais foram constituídas por vasos de 15 L, como substrato utilizou-se um Latossolo Vermelho distrófico típico, de textura argilosa,

segundo Santos *et al.* (2018), coletado na camada de 0,0 a 0,20 m na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP - Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, localizada em Selvíria- MS. A análise química inicial ($\text{pH}_{\text{CaCl}_2} = 5,0$; $\text{P (resina)} \text{ mg dm}^{-3} = 25$; $\text{MO g dm}^{-3} = 18$; $\text{K}^+ \text{ mmolc dm}^{-3} = 0,7$; $\text{Ca}^{2+} \text{ mmolc dm}^{-3} = 19$; $\text{Mg}^{2+} \text{ mmolc dm}^{-3} = 16$; $\text{H+Al mmolc dm}^{-3} = 31$; $\text{Al mmolc dm}^{-3} = 1$; $\text{CTC mmolc dm}^{-3} = 66,7$; $\text{V (\%)} = 54$), realizada de acordo com Raij *et al.* (2001), identifica um solo fortemente ácido (SANTOS *et al.*, 2018).

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4×3 para as avaliações entre os tratamentos, e $4 \times 3 + 2$ para as comparações dos tratamentos às testemunhas, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de quatro doses de P (0; 23; 47 e 70 kg ha^{-1}), baseadas na utilização de 0, 1/3, 2/3 e 3/3 da dose recomendada para arroz de sequeiro, respectivamente, utilizando superfosfato simples, com a inoculação de três isolados de BSF (AAC01 – *Pantoea* sp.; AAC02 – *Enterobacter* sp.; AAC04 – *Klebsiella* sp.). Os tratamentos testemunha consistiram na aplicação de duas doses de P (0 e 35 mg dm^{-3} equivalentes a 0 e 70 kg ha^{-1}) sem inoculação.

A adubação mineral do solo foi calculada de acordo com a análise química inicial levando em consideração as recomendações de Cantarella e Furlani (1996): 10 mg dm^{-3} de N na forma de sulfato de amônio e 30 mg dm^{-3} de K na forma de cloreto de potássio, juntamente com as doses de P, na semeadura. A adubação nitrogenada também foi realizada em cobertura aos 20 e 40 dias após a emergência das plantas (DAE), com 20 mg dm^{-3} de N na forma de ureia, em cada aplicação.

O arroz de terras altas, cultivar BRS Esmeralda, foi selecionado como planta indicadora, sendo colocadas 16 sementes por vaso. A inoculação de cada BSF foi realizada via semente, na dose de 2 ml kg^{-1} , dentro de saco plástico com vigorosa agitação por 3 minutos, quando as sementes foram deixadas para secar na sombra. Os inoculantes foram preparados com a multiplicação individual de cada BSF em laboratório, em meio de cultura GL líquido (glicose 10 g L^{-1} , extrato de levedura 2 g L^{-1}), com incubação a 30°C , sob agitação a 150 rpm por aproximadamente 18 horas, atingindo a concentração mínima de $1,0 \times 10^9$ unidades formadoras de colônias - UFC mL^{-1} .

Aos dez dias após a emergência das plantas foi realizado o desbaste, mantendo-se 10 plantas por vaso, que foram irrigadas com água de abastecimento público durante todo o período de cultivo, procurando-se manter o solo sempre úmido. O experimento foi conduzido até o estágio de florescimento, que ocorreu aos 77 dias após a emergência, quando as plantas foram cortadas rente à superfície do solo.

Por ocasião do florescimento foram medidos a altura das plantas, na distância média compreendida entre a superfície do solo e a extremidade superior da panícula mais alta; o número de panículas, avaliado pela contagem do número de plantas em cada vaso com conversão para m^2 ; e o diâmetro médio dos colmos, medido na parte média do colmo e calculado com base em uma amostragem de 5 plantas por vaso.

Após a colheita, o solo rizosférico foi coletado, homogeneizado, peneirado e seco. A avaliação dos atributos químicos do solo seguiu a metodologia de Raij *et al.* (2001). A quantificação de C-CO₂ liberado pela respiração basal do solo (RBS) seguiu a metodologia de Anderson e Domsch (1989), onde 100 g de solo fresco foram incubadas em frasco de vidro juntamente com um pequeno recipiente contendo 10 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L⁻¹. O frasco foi hermeticamente fechado e o tempo de incubação foi determinado por meio de uma curva de calibração. Após a abertura dos frascos, foi adicionado 2 mL de cloreto de bário (BaCl₂) 10% ao recipiente contendo NaOH para a precipitação do CO₂. A seguir, a titulação foi realizada com ácido clorídrico (HCl) 0,1 mol L⁻¹, tendo fenolftaleína 1% como indicador. A titulação da base livre permite calcular, por subtração, a quantidade de C-CO₂ liberado que reage com NaOH (ANDERSON; DOMSCH, 1989).

As raízes das plantas foram lavadas sobre peneira em água corrente para a completa remoção do solo e deixadas para rápida secagem à sombra. Em seguida elas foram pesadas, assim como a parte aérea das plantas, para obtenção da massa fresca. As amostras foram então levadas para secagem e secas em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C por 72 h. Após a secagem, as amostras foram pesadas para a obtenção da massa fresca e, em seguida, foram moídas em moinho tipo Wiley, e submetidas à digestão nitro-perclórica para a determinação analítica do P via colorimetria do metavanadato (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($P < 0,05$). Os efeitos da inoculação foram comparados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) e os efeitos das doses de P foram avaliados por análise de regressão, adotando-se a equação com maior coeficiente de determinação ($p < 0,05$). A comparação às testemunhas (adição de 0,0 e 70 kg ha⁻¹ de P) ocorreu por meio do teste de Dunnett ($p \leq 0,05$).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As doses de P adicionadas ao solo e a inoculação das sementes com os isolados de BSF influenciaram os teores de P raiz, mas não os demais atributos químicos avaliados. Assim pode-se dizer que as doses de P adicionadas por meio da aplicação de superfosfato

simples, bem como, a inoculação de BSF nas sementes não promoveram alterações de pH, MO, Al, SB, CTC, V%, assim como o teor de P foliar (Tabela 1).

A interação entre doses de P e a inoculação de BSF influenciou os teores de P do solo e RBS (Tabela 1). Embora sejam esperadas mudanças na fertilidade do solo em função da aplicação de superfosfato simples devido ao seu conteúdo de P, cálcio e enxofre, estas alterações tem sido relatadas em doses elevadas, como mostrado por Schenfert *et al.* (2015) com 444 kg ha⁻¹ de P₂O₅ em Latossolo Amarelo, e Homenchuk e Fonseca (2018) com 500 kg ha⁻¹ de P₂O₅ em Latossolo Vermelho Distrófico.

Estudando a aplicação de doses de P (0 a 200 kg ha⁻¹) ao solo, Moreira *et al.* (2010) observaram diferenças significativas apenas para os teores de P e matéria orgânica, que aumentaram juntamente com as doses, não interferindo nos demais parâmetros de fertilidade. Diferindo da presente pesquisa, onde foi utilizado superfosfato triplo, a fonte de P utilizada pelos autores foi fosfato natural reativo, que apresentou maior teor de matéria orgânica em sua composição e pode ter contribuído para os aumentos verificados para este parâmetro.

Sobre a inoculação das BSF é importante destacar que, em solos com teores adequados de nutrientes a atividade dos micro-organismos para disponibilização dos mesmos é reduzida, considerando que existe disponibilidade de nutrientes em teores suficientes para garantir o desenvolvimento das plantas, não sendo necessário que a planta direcione recursos para manter associação microbiana para este fim (VALADARES; MESCOLOTTI; CARDOSO, 2017). Assim, a falta de interferência das bactérias inoculadas sobre os atributos químicos do solo, na presente pesquisa, pode ser explicada pela adubação realizada no início do experimento. Esta observação corrobora com Kumar, Maurya e Raghuwanshi (2014) ao relatarem que a inoculação das BSF *Bacillus megaterium*, *Arthrobacter chlorophenolicus* e *Enterobacter* sp. de forma separada não alterou os atributos químicos de um solo corrigido.

Tabela 1. Análise de variância para pH, teor de fósforo (P), matéria orgânica (MO), alumínio (Al), soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação por bases (V) do solo, teor de fósforo foliar (P foliar), fósforo da raiz (P grão) e respiração basal do solo (RBS), para o arroz cultivar BRS Esmeralda, em função de doses de fósforo (DP) e da inoculação com BSF¹. Ilha Solteira – SP, 2019.

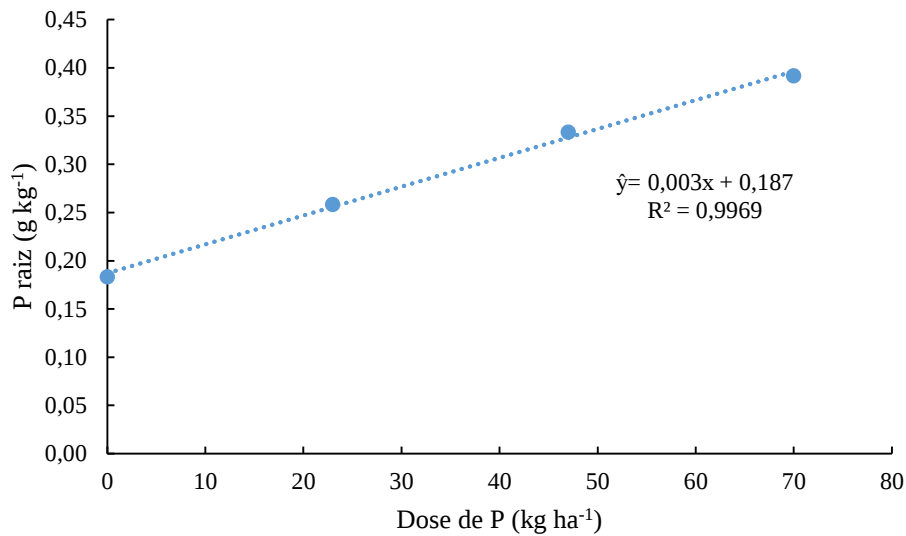
Fontes de variação	pH	P resina mg dm ³	MO	Al	SB	CTC	V	P foliar g kg ⁻¹	P raiz kg ⁻¹	RBS mg CO ₂ kg ⁻¹
0 kg ha ⁻¹	5,91	15,25	16,08	16,00	29,94	45,94	64,67	1,49	0,18b	1,17
23,3 kg ha ⁻¹	5,91	16,08	16,00	16,25	28,93	45,18	63,67	1,51	0,25ab	1,28
46,6 kg ha ⁻¹	5,88	15,25	16,50	16,17	26,58	42,74	62,08	1,57	0,33a	1,33
70,0 kg ha ⁻¹	5,88	17,00	16,67	17,08	28,83	45,94	62,00	1,64	0,39a	1,26
AAC01	5,92	15,06	15,88	16,50	28,30	44,80	62,88	1,51	0,23b	1,20
AAC02	5,94	15,06	16,38	16,25	28,60	44,85	63,50	1,57	0,31ab	1,26
AAC04	5,83	18,31	16,69	16,38	28,44	44,81	62,94	1,59	0,33a	1,33
DP	0,065 ^{ns}	2,087 ^{ns}	0,603 ^{ns}	0,860 ^{ns}	1,224 ^{ns}	2,205 ^{ns}	0,585 ^{ns}	0,257 ^{ns}	6,051**	4,783**
Inoc	1,636 ^{ns}	0,981 ^{ns}	1,303 ^{ns}	0,077 ^{ns}	0,018 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,055 ^{ns}	0,156 ^{ns}	3,436*	6,903**
DP x Inoc	1,679 ^{ns}	3,080*	0,401 ^{ns}	1,677 ^{ns}	1,780 ^{ns}	1,518 ^{ns}	1,680 ^{ns}	0,620 ^{ns}	0,462 ^{ns}	3,377*
Média geral	5,90	16,31	16,31	16,38	28,45	44,82	63,10	1,56	0,29	1,26
C.V. (%)	3,32	20,71	8,80	11,03	15,55	7,40	9,29	29,32	43,71	4,78

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns}= não significativo. * e ** = significativos a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. C.V.= coeficiente de variação. ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

Fonte: elaboração do próprio autor.

O teor de P na raiz das plantas variou em função das doses de P de forma linear, sendo os menores teores encontrados nas plantas onde não houve adubação (Figura 1). De acordo com Liu (2021), a concentração de P nas raízes dos cereais está diretamente relacionada à disponibilidade de P no solo, pois seu sistema radicular é altamente responsivo à nutrição de P.

Figura 1. Teor de P na raiz das plantas do cultivar BRS Esmeralda em função de doses de P. Ilha Solteira – SP, 2019.



Fonte: elaboração do próprio autor.

O teor de P nas raízes também variou em função da inoculação das BSF, com os valores mais elevados ocorrendo nas plantas inoculadas com o isolado AAC04 (*Klebsiella* sp.), demonstrando a capacidade do isolado atuar na disponibilização de P às plantas (Tabela 1). Pesquisando a capacidade de solubilização de diferentes cepas de *Klebsiella*, Rajput *et al.* (2015) verificaram até 59% de liberação de fosfato pelas cepas, além de aumento no comprimento das raízes e parte aérea de plantas de trigo inoculadas.

As diferenças encontradas no teor de P na raiz não refletiram em aumentos significativos nos teores de P nas folhas das plantas. Pode-se justificar pela ocorrência de realocação do P já absorvido pela planta, como reportado por Irfan *et al.* (2020), sobretudo nos tecidos metabolicamente mais ativos. Assim, é importante relatar que no momento da coleta das folhas, as plantas encontravam-se em período de florescimento, o que requer suprimento abundante em P. De acordo com Mondo *et al.* (2015), a importância do P para o florescimento é tamanha que pode alongar ou reduzir seu período.

A interação significativa entre as doses de P e a inoculação das BSF mostrou que a inoculação do isolado AAC04 (*Klebsiella* sp.) juntamente com as doses de 46,6 e 70 kg ha⁻¹ de P disponibilizaram mais P no solo (Tabela 2). Os teores encontrados para ambas as doses não diferiram, demonstrando que a inoculação do isolado promoveu a solubilização de P com uma adubação fosfatada 33% menor que 70 kg ha⁻¹, o que demonstrou a possibilidade de redução da adubação quando realizada a inoculação.

Tabela 2. Desdobramento da interação significativa da análise de variância para fósforo do solo (P) e respiração basal do solo (RBS) para o arroz cultivar BRS Esmeralda em função de doses de P e da inoculação de BSF¹. Ilha Solteira – SP, 2019.

Inoculação	Doses de fósforo (kg ha ⁻¹)				Regressão	Valores de F
	0	23,3	46,6	70		
----- P resina (mg dm³) -----						
AAC01	15,75a	15,50ab	13,50b	15,50b	ns	0,385 ^{ns}
AAC02	15,75a	14,75b	14,75b	15,00b	ns	0,533 ^{ns}
AAC04	14,25a	18,00a	20,50a	20,50a	RL(1)	4,222 [*]
Valores de F	0,263 ^{ns}	3,460 [*]	4,360 [*]	3,243 [*]		
----- RBS (mg CO ₂ kg ⁻¹) -----						
AAC01	1,12a	1,22	1,21c	1,26ab	RL(2)	4,173 [*]
AAC02	1,19a	1,31	1,34b	1,19b	RQ(3)	6,831 ^{**}
AAC04	1,21a	1,31	1,45a	1,34a	RQ(4)	9,533 ^{**}
Valores de F	2,815 ^{ns}	2,980 ^{ns}	9,242 ^{**}	5,995 ^{**}		

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna por fonte de variação não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). RL= Regressão linear. RQ= Regressão quadrática. ns= não significativo. * e ** = significativos a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. (1) $\hat{y} = 0,091x + 15,128$ ($R^2 = 0,8620$); (2) $\hat{y} = 0,0018x + 1,14$ ($R^2 = 0,8019$); (3) $\hat{y} = -0,0001x^2 + 0,0087x + 1,19$ ($R^2 = 0,9843$); (4) $\hat{y} = -0,0001x^2 + 0,009x + 1,20$ ($R^2 = 0,8554$). ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

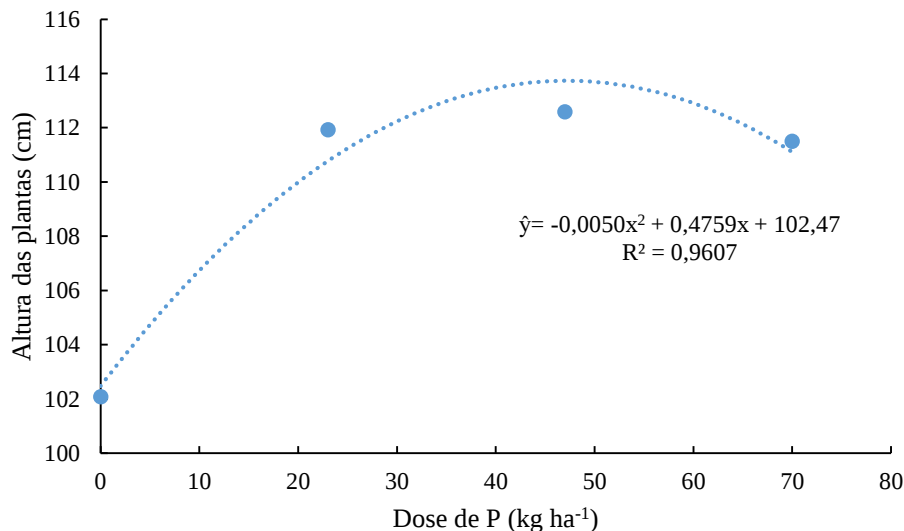
Fonte: elaboração do próprio autor.

A respiração basal do solo aumentou com as doses de P juntamente com a inoculação do isolado AAC01, produzindo valores que se ajustaram ao modelo linear de regressão, enquanto os isolados AAC02 e AAC04, apresentaram resposta quadrática na regressão, com valores mais elevados próximos à dose de 46,6 kg ha⁻¹ de P (Tabela 2) e ponto de máximo ocorrendo em 43,5 e 45,0 kg ha⁻¹ para AAC02 e AAC04 respectivamente.

A inoculação de micro-organismos solubilizadores de P, de acordo com Yu *et al.*, (2011) pode promover o incremento indireto das populações microbianas nativas pela alteração dos exsudatos radiculares. A adição de fosfato insolúvel também eleva as populações de micro-organismos do solo, fornecendo uma forma de substrato para sua sobrevivência e desenvolvimento. Assim, a interação entre os isolados inoculados na planta e o fosfato adicionado ao solo favoreceu o desenvolvimento das comunidades microbianas nativas. Para os isolados AAC02 e AAC04, a maior taxa de RBS se deu com uma redução de mais de 30% do P adicionado ao solo, evidenciando a atividade dos isolados inoculados na planta.

A altura das plantas se ajustou com função quadrática às doses de P crescentes, com plantas menores nos tratamentos sem adição deste nutriente, com o cálculo de ponto máximo em 47,6 kg ha⁻¹ de P (Figura 2).

Figura 2. Análise de regressão para altura de plantas do cultivar BRS Esmeralda em função de doses de P. Ilha Solteira – SP, 2019.



Fonte: elaboração do próprio autor.

Em experimento com a aplicação de doses de P em arroz de terras altas, Rawat, Shankhdhar e Shankhdhar (2021) verificaram menor altura de plantas nos tratamentos sem P, sendo as maiores médias verificadas nos tratamentos com a adição de P na quantidade de 75 e 100% da dose recomendada para a cultura. No presente trabalho a maior média para a altura de plantas, de acordo com o cálculo do ponto máximo da função, foi verificada na dose de 47,6 kg ha⁻¹, ou seja, 68% da dose recomendada, assemelhando-se ao resultado encontrado pelos autores.

Pesquisando os efeitos da inoculação de fungo solubilizador de P (*Penicillium oxalicum*) juntamente com doses deste elemento sobre plantas de trigo, Singh e Reddy (2011) encontraram as menores médias para altura de plantas nos tratamentos sem adição de P e não inoculados, e as maiores médias nos tratamentos com a dose de 40 kg ha⁻¹ de P e inoculados.

Embora não tenham sido encontradas diferenças significativas para a altura das plantas em função da inoculação das BSF no presente trabalho, este parâmetro não tem sido diretamente associado aos benefícios na inoculação. Ao avaliarem os efeitos da inoculação de BSF (*Pseudomonas* sp.) sobre plantas de trigo, Liu *et al.* (2019) não observaram diferenças

significativas para a altura das plantas, no entanto, os efeitos da inoculação foram vistos sobre o acúmulo de massa seca e massa fresca da parte aérea e da raiz, que aumentaram.

Tabela 3. Análise de variância para altura de plantas, panículas por m², diâmetro do colmo (DC), comprimento de raiz (CR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca de parte aérea (MSPA), massa fresca de raiz (MFRA) e massa seca de raiz (MSRA) para arroz cultivar BRS Esmeralda em função de doses de fósforo (DP) e da inoculação de BSF¹. Ilha Solteira – SP, 2019.

Fontes de variação	Altura cm	Panículas m ²	DC mm	CR cm	MFPA g	MSPA g	MFRA g	MSRA g
Doses de fósforo (DP)								
0,0 kg ha ⁻¹	102,08	298	5,57	43,58	10,42	2,45b	3,25	1,48
23,3 kg ha ⁻¹	111,92	283	5,50	46,50	11,70	2,70ab	4,22	1,76
46,6 kg ha ⁻¹	112,58	279	5,46	49,58	12,32	2,80a	5,36	2,41
70,0 kg ha ⁻¹	111,50	301	5,64	49,42	11,98	2,87a	4,64	2,57
Inoculação (Inoc)								
AAC01	108,00	277	5,50	45,75	11,37	2,56	3,93b	1,85
AAC02	108,81	293	5,49	46,38	11,21	2,64	4,05ab	1,82
AAC04	111,75	301	5,64	49,69	12,24	2,84	5,12a	2,50
Valores de F								
DP	10,917**	1,532 ^{ns}	0,298 ^{ns}	4,475**	10,622**	5,609**	6,660**	5,483**
Inoc	2,286 ^{ns}	2,464 ^{ns}	0,509 ^{ns}	1,386 ^{ns}	6,525**	2,936 ^{ns}	7,987**	4,027*
DP x Inoc	0,309 ^{ns}	1,068 ^{ns}	0,316 ^{ns}	3,608*	3,007*	1,318 ^{ns}	3,961*	3,709*
Média geral	109,52	290	5,54	47,19	11,60	2,68	4,37	2,06
C.V. (%)	4,77	10,40	8,69	10,35	7,51	12,52	23,23	37,30

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns}= não significativo. * e ** = significativos a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. C.V.= coeficiente de variação. ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

Fonte: elaboração do próprio autor.

O número de panículas não variou em função dos tratamentos utilizados (Tabela 3). Em estudo dos efeitos da inoculação de duas BSF (*Gluconacetobacter* sp. e *Burkholderia* sp.) juntamente com doses de P sobre plantas de arroz de terras altas, Stephen *et al.* (2015) não encontraram diferenças para o número de panículas em função da inoculação das BSF

separadamente, assim como no presente trabalho. No entanto, houve aumento significativo em função da inoculação conjunta das duas BSF com a dose de 60 kg ha⁻¹ de P. A coinoculação de micro-organismos é uma técnica que visa ampliar o potencial de ganhos por meio de efeito sinérgico, podendo superar os resultados obtidos quando os micro-organismos são utilizados separadamente. No presente trabalho este método não foi empregado, podendo ser o foco para trabalhos futuros.

Os valores obtidos para o diâmetro do colmo não variaram em função dos tratamentos utilizados (Tabela 3). Inoculando três diferentes isolados de BSF (*Pantoea ananatis*, *Enterobacter* sp., e *Rahnella aquatilis*) em arroz de terras altas, Bakhshandeh, Pirdashti e Lendeh (2017) observaram aumento do diâmetro do colmo em função de apenas um isolado. A importância do aumento do diâmetro do colmo se dá pela resistência ao acamamento, no entanto, não tem sido diretamente associado a melhorias nos componentes de produção e produtividade (ZHANG *et al.*, 2016).

Verificou-se interações significativas entre as doses de P e a inoculação de BSF para comprimento de raiz e massa fresca de parte aérea (Tabela 4), destacando o isolado AAC04, para o comprimento de raiz, ajustando-se ao modelo quadrático de regressão, com a maior média (ponto de máximo) observada na dose de 50,9 kg ha⁻¹ de P. Avaliando os efeitos de bactérias solubilizadoras de P (*Pantoea cypripedii* e *Pseudomonas plecoglossicida*) inoculadas juntamente com fosfato de rocha na fertilização de plantas de milho e trigo, Kaur e Reddy (2015) encontraram o maior comprimento de raiz nas plantas inoculadas juntamente com 59 kg ha⁻¹ de P, para ambas as bactérias e culturas, corroborando os resultados da presente pesquisa.

As maiores médias para a massa fresca de parte aérea foram encontradas para os isolados AAC02 e AAC04 nas doses de 52,8 e 51,45 kg ha⁻¹ de P, respectivamente, todos ajustando-se ao modelo quadrático de regressão (Tabela 4). Em pesquisa para avaliar o efeito de diferentes níveis de P sobre arroz de terras altas, Mori *et al.* (2016), demonstraram que o aumento na produção de biomassa está diretamente relacionado com o teor de P disponível à planta, com redução de até 78% nas plantas com deficiência do nutriente.

Avaliando a influência da inoculação de diferentes bactérias promotoras de crescimento (*Burkholderia* spp., *Rhizobium* spp. e *Pseudomonas* spp.) sobre o desenvolvimento de diferentes cultivares de arroz de terras altas, Ferreira, Knupp e Martin-Didonet (2014), verificaram um incremento médio de 8,8% para a massa fresca da parte aérea das plantas inoculadas. Na presente pesquisa, o aumento médio de massa fresca de parte aérea nos tratamentos inoculados foi de 20%, em relação aos tratamentos sem adição de P. Estes

tratamentos receberam apenas 66% da dose recomendada de P para a cultura, evidenciando a contribuição dos isolados AAC02 e AAC04 na disponibilização de P para a planta.

Tabela 4. Desdobramento da interação significativa da análise de variância para comprimento de raiz (CR) e massa fresca de parte aérea (MFPA) para o arroz cultivar BRS Esmeralda em função de doses de fósforo e da inoculação de BSF¹. Ilha Solteira – SP, 2019.

Inoculação	Doses de fósforo (kg ha ⁻¹)				Regressão	Valores de F
	0	23,3	46,6	70		
----- CR (cm) -----						
AAC01	43,5a	45,00a	49,0ab	45,50a	ns	0,908 ^{ns}
AAC02	43,5a	45,25a	45,5b	51,25a	ns	2,665 ^{ns}
AAC04	43,75a	49,25a	54,25a	51,50a	RQ (1)	4,119*
Valores de F	0,073 ^{ns}	0,954 ^{ns}	3,252*	1,932 ^{ns}		
----- MFPA (g) -----						
AAC01	10,96a	11,41ab	11,54a	11,55a	ns	0,408 ^{ns}
AAC02	9,83a	10,85b	12,56a	11,59a	RQ (2)	7,029**
AAC04	10,49a	12,69a	12,86a	12,81a	RQ (3)	7,199**
Valores de F	1,696 ^{ns}	5,893**	2,252 ^{ns}	2,706 ^{ns}		

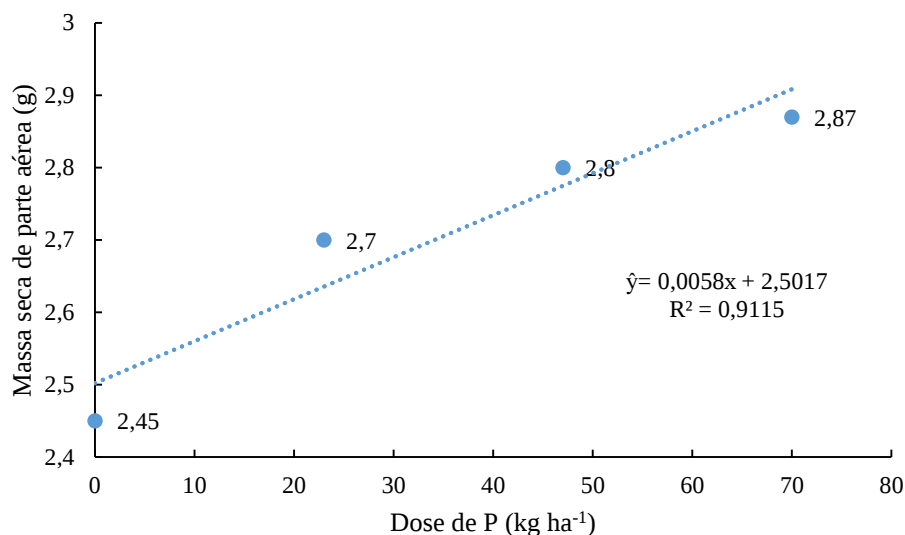
Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna por fonte de variação não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). RQ= Regressão quadrática. ns= não significativo. * e ** = significativos a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. (1) $\hat{y} = -0,0038x^2 + 0,3867x + 43,39$ ($R^2 = 0,9560$); (2) $\hat{y} = -0,0009x^2 + 0,0950x + 9,66$ ($R^2 = 0,8617$); (3) $\hat{y} = -0,001x^2 + 0,1029x + 10,58$ ($R^2 = 0,9586$). ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

Fonte: elaboração do próprio autor.

A massa seca de parte aérea variou em função das doses de P, ajustando-se ao modelo linear de regressão com aumento no acúmulo de massa seca em função do aumento de doses de P (Figura 3). Este resultado confirma a importância do P para o acúmulo de biomassa em plantas de arroz, uma vez que é determinante para o crescimento vegetativo, por meio, por exemplo, do aumento da área foliar fotossinteticamente ativa, garantindo maior influxo de CO₂ e, conseqüentemente, o aumento da biomassa (SILVA *et al.*, 2011).

A massa seca da parte aérea não variou com a inoculação das BSF (Tabela 2). Em concordância com o presente resultado, Rajput *et al.* (2015) em estudo com a inoculação de BSF (*Klebsiella* spp.) em sementes de trigo, também não observaram diferenças para matéria fresca da parte aérea em função da inoculação. Enquanto Stephen *et al.*, (2015) observaram incrementos médios de mais de 50% na matéria fresca de plantas de arroz inoculadas com BSF (*Gluconacetobacter* sp. e *Burkholderia* sp.). Estes autores, no entanto, utilizaram o método de inoculação no sulco de plantio, diferindo da presente pesquisa onde o método de inoculação foi via sementes.

Figura 3. Análise de regressão para massa seca da parte aérea de plantas do cultivar BRS Esmeralda em função de doses de P. Ilha Solteira – SP, 2019.



Fonte: elaboração do próprio autor.

As massas fresca e seca da raiz variaram em função das doses de P e da inoculação de BSF (Tabela 5). Os isolados AAC01 e AAC04 exibiram os maiores valores para a massa fresca da raiz, ajustando-se ao modelo quadrático de regressão, com 4,88 e 6,72g, respectivamente, para a dose de 46,6 kg ha⁻¹ de P, com cálculo de ponto máximo em 40,5 e 45,8 kg ha⁻¹ de P, respectivamente. O isolado AAC 04 também propiciou resultado significativo para massa seca da raiz, com 3,37 g na dose de 46,6 mg dm⁻³, com ajuste ao modelo quadrático de regressão, sendo o ponto máximo calculado para 55,5 kg ha⁻¹ de P.

Estes resultados, juntamente àqueles obtidos para o comprimento de raiz, mostram que o isolado AAC04 atuou diretamente na promoção do crescimento radicular das plantas. Para Irfan *et al.* (2020), é importante observar que resultados de maior acúmulo de biomassa nas raízes das plantas podem estar associados à deficiência de P, induzindo a planta a aumentar seu enraizamento em busca do nutriente. No entanto, no presente trabalho, além do mesmo isolado ter proporcionado também ganhos em massa fresca de parte aérea, os incrementos também ocorreram com redução aproximada de 33% da dose recomendada de P para a cultura do arroz, ou seja, os resultados foram superiores em comparação à dose de 100%, evidenciando a atividade do isolado na disponibilização de P para a planta.

Tabela 5. Desdobramento da interação significativa da análise de variância para massa fresca da raiz (MFRA) e massa seca da raiz (MSRA) para o arroz cultivar BRS Esmeralda em função de doses de fósforo e da inoculação de BSF¹. Ilha Solteira – SP, 2019.

Inoculação	Doses de fósforo (kg ha ⁻¹)				Regressão	Valores de F
	0	23,3	46,6	70		
----- MFRA (g) -----						
AAC01	2,60a	4,49a	4,88b	3,76b	RQ(1)	3,911 [*]
AAC02	3,26a	3,51a	4,49b	4,97a	ns	2,511 ^{ns}
AAC04	3,90a	4,68a	6,72a	5,19a	RQ(2)	5,487 ^{**}
Valores de F	1,654 ^{ns}	1,534 ^{ns}	9,256 ^{**}	4,098 [*]		
----- MSRA (g) -----						
AAC01	1,41a	1,79a	1,94b	2,26a	ns	0,837 ^{ns}
AAC02	1,27a	1,49a	1,94b	2,60a	ns	2,328 ^{ns}
AAC04	1,78a	2,01a	3,37a	2,86a	RQ(3)	3,735 [*]
Valores de F	0,465 ^{ns}	0,454 ^{ns}	4,604 [*]	0,629 ^{ns}		

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna por fonte de variação não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). RQ= Regressão quadrática. ns= não significativo. * e ** = significativos a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. (1) $\hat{y} = -0,0014x^2 + 0,1133x + 2,60$ ($R^2 = 0,9990$); (2) $\hat{y} = -0,0011x^2 + 0,1007x + 3,66$ ($R^2 = 0,7288$); (3) $\hat{y} = -0,0004x^2 + 0,0444x + 1,63$ ($R^2 = 0,7265$). ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

Fonte: elaboração do próprio autor.

O isolado AAC04 foi identificado como *Klebsiella* sp. (Capítulo 1), espécie que tem recebido bastante atenção nos últimos anos em pesquisas voltadas à agricultura. Em busca da obtenção dos melhores isolados para a solubilização de fosfato a partir do solo de diferentes áreas de produção, Sungthongwises *et al.* (2012) concluíram que o isolado de *Klebsiella pneumoniae* apresentou os melhores índices com alta solubilização para fosfatos de ferro e alumínio. Em pesquisa com a inoculação de isolados de *Klebsiella* em plantas de trigo, Rajput *et al.* (2015) constataram significante melhoria do crescimento das plantas inoculadas, com aumento no comprimento da raiz e parte aérea, matéria seca e síntese de ácido oxálico e do hormônio auxina.

Buscando isolados solubilizadores de P a partir de solos sob diferentes condições de estresse, Walpola, Arunakumara e Yoon (2014) concluíram que o isolado de *Klebsiella oxytoca* é um potente solubilizador de fosfato sob condições de estresse, mantendo sua capacidade de solubilização sob grandes intervalos de pH, temperatura e concentração salina. Estes autores também estudaram a promoção do crescimento de plantas de feijão-mungo por meio da inoculação do isolado, e constataram, além da solubilização de P, estímulo à produção de auxina e da enzima ACC desaminase, que aumenta a resistência da planta aos estresses ambientais.

Os resultados da comparação dos tratamentos utilizados no presente trabalho às testemunhas estão apresentados na Tabela 6. Os tratamentos inoculados com o isolado AAC01 juntamente com a dose de 46,6 kg ha⁻¹ apresentaram valores superiores aos do controle não inoculado e sem P para altura de plantas e respiração basal do solo. Na mesma comparação, os tratamentos inoculados como isolado AAC02 juntamente com a dose de 46,6 kg ha⁻¹ apresentaram valores superiores para a altura de plantas, massa fresca de parte aérea e respiração basal do solo.

Em pesquisa com a inoculação de isolados de *Pantoea agglomerans* e *Enterobacter hormaechei* em sementes de plantas de trigo e quiabo, respectivamente, Cherif-Silini *et al.* (2019) e Roslam *et al.* (2020) também verificaram efeitos mais pronunciados sobre a produção de biomassa das plantas, atribuindo os ganhos obtidos à produção de AIA, constatada pelos autores. O aumento da RBS é um indicativo de que houve, de fato, a colonização dos isolados inoculados, sendo capazes de sobreviver em solo não-estéril e competir com outros micro-organismos na rizosfera radicular. Esses resultados indicam que o isolado pode ser usado eficientemente em condições de campo (CHERIF-SILINI ET AL., 2019).

Embora a inoculação destes isolados não tenha apresentado resultados significativos para os demais parâmetros avaliados, os ganhos obtidos em biomassa poderiam se refletir positivamente sobre a produtividade das plantas de arroz, parâmetro que não foi avaliado no presente experimento em vasos e que será foco de discussão no próximo capítulo.

Para o P do solo, os tratamentos inoculados com os isolados AAC01 e AAC02 juntamente com a dose de 70 kg ha⁻¹ de P apresentaram concentrações inferiores àquela obtida pelo tratamento controle + 70 kg ha⁻¹ de P. Em solos tropicais, os organismos vivos atuam como reservatório de nutrientes para as plantas, imobilizando em seus corpos, temporariamente, C, N, P, K, Ca, Mg, S e micronutrientes que, após sua morte e decomposição, são liberados no solo e absorvidos de forma direta pelas plantas (GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES, 2008; HERNANI, 2021). Esta hipótese pode ser confirmada pelos resultados obtidos nos mesmos tratamentos para a concentração de P na raiz das plantas, que não diferiu para o controle + 70 mg dm⁻³ de P, evidenciando a disponibilidade de P para a absorção das plantas.

Tabela 6. Análise de variância comparativa entre os tratamentos e as testemunhas para fósforo do solo (P), fósforo da raiz (P foliar), altura de plantas, comprimento de raiz (CR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca de parte aérea (MSPA), massa fresca de raiz (MFRA), massa seca de raiz (MSRA) para o arroz cultivar BRS Esmeralda, e respiração basal do solo (RBS). Ilha Solteira – SP, 2019.

Inoculação	Dose de P	P (resina) mg dm ⁻³	P raiz g kg ⁻¹	Altura cm	CR cm	MFPA g	MSPA g	MFRA g	MSRA g	RBS mg CO ₂ kg ⁻¹
Não inoculado	0	14,3b	0,23b	100,5b	45,5b	10,7b	2,4b	2,5b	0,6b	0,95b
Não inoculado	70,0	23,0A	0,33A	116,0A	53A	12,2A	2,7A	5,1A	2,05B	1,09B
AAC01	0	15,8bB	0,15bB	100,0bB	43,5bA	11,0bA	2,2bA	2,6bB	1,4bB	1,12bB
AAC01	23,3	15,5bB	0,18bB	108,5bA	45,0bA	11,4bA	2,5bA	4,5bA	1,8bB	1,22aA
AAC01	46,6	13,5bB	0,23bA	111,8aA	49,0bA	11,5bA	2,8bA	4,8bA	2,0bB	1,21aB
AAC01	70,0	15,5bB	0,35bA	111,8aA	45,5bA	11,6bA	2,7bA	3,8bA	2,3aB	1,26aA
AAC02	0	15,8bB	0,23bA	101,0bB	43,5bB	9,8bB	2,6bA	3,3bA	1,3bB	1,19aB
AAC02	23,3	14,8bB	0,30bA	112,5aA	45,3bA	10,9bA	2,6bA	3,5bA	1,5bB	1,31aA
AAC02	46,6	14,8bB	0,35bA	111,5aA	45,5bA	12,6aA	2,7bA	4,5bA	1,9bB	1,34aA
AAC02	70,0	15,0bB	0,38bA	110,3bA	51,5bA	11,6bA	2,7bA	5,0aA	2,6aB	1,19aB
AAC04	0	14,3bB	0,18bB	105,3bA	43,8bA	10,5bB	2,3bA	3,9bA	1,8bB	1,21aB
AAC04	23,3	18,0aA	0,30bA	114,8aA	49,3bA	12,7aA	3,0aA	4,7aA	2,0bB	1,31aA
AAC04	46,6	20,5aA	0,43aA	114,5aA	54,3aA	12,8aA	3,1aA	6,7aA	3,4aA	1,45aA
AAC04	70,0	20,5aA	0,45aA	112,5aA	51,3bA	12,8aA	3,0aA	5,2aA	2,9aB	1,34aA
Valores de F		2,261*	2,983*	3,387**	1,952*	4,895**	2,776**	4,581**	3,035*	10,877**
Média geral		20,5	0,29	109,4	47,4	11,6	2,7	4,3	2,1	1,24
CV (%)		16,49	42,17	5,20	11,52	7,60	12,24	23,99	36,87	4,79

Nota: Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem do tratamento controle (não inoculado) e sem adição de fósforo pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, e as médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem do tratamento controle (não inoculado) e com adição 70 kg ha⁻¹ de fósforo. * significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. CV= coeficiente de variação.

Fonte: elaboração do próprio autor.

Os tratamentos inoculados com o isolado AAC04 juntamente com a dose de 23,3 kg ha⁻¹ de P apresentaram maiores valores para a concentração de P do solo, altura de plantas, massa fresca e massa seca de parte aérea, massa fresca de raiz e respiração basal do solo em comparação aos resultados do controle sem adição de P. Na mesma comparação este mesmo

isolado juntamente com as doses de 46,6 e 70 kg ha⁻¹ proporcionou aumento nos valores de concentração de P no solo, concentração de fósforo na raiz, altura de plantas, comprimento de raiz, massa fresca e massa seca de parte aérea, massa fresca e massa seca de raiz e respiração basal do solo. Para a massa seca de raiz e a respiração basal do solo, esses tratamentos também apresentaram valores superiores àqueles obtidos para o controle não inoculado + 70 kg ha⁻¹ de P.

De acordo com Li *et al.* (2020), isolados do gênero *Klebsiella* capazes de solubilizar fosfato também podem conferir às plantas resistência aos diversos estresses que ocorrem durante o cultivo. Os autores verificaram aumento na expressão de genes que codificam enzimas antioxidantes nas plantas inoculadas com *Klebsiella* sp., bem como, aumento da atividade destas mesmas enzimas (glutathione redutase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase). Uma vez que os sintomas de estresse diminuem no metabolismo vegetal, a planta é capaz de utilizar os recursos disponíveis com maior eficiência, levando a um melhor desenvolvimento (MITRA *et al.*, 2018). Estes resultados reforçam aqueles já discutidos neste capítulo e confirmam o potencial do isolado AAC04 para inoculação em campo.

A inoculação dos três isolados não proporcionaram efeitos significativos na ausência de P. Para Kaur e Reddy (2014), a inoculação das BSF proporciona aumento de eficiência na utilização do fósforo aplicado e já existente no solo, no entanto, para o fósforo que se encontra fixado, a taxa de solubilização pode ser menor do que a demanda de P pelas plantas. Além disso, quando aplicado ao solo também atua como fonte de nutriente para a multiplicação destes micro-organismos, sendo possível encontrar um equilíbrio entre a dose de P a ser aplicada e o isolado inoculado, conforme visto nos resultados apresentados aqui.

4.4 CONCLUSÕES

A inoculação do isolado AAC04 – *Klebsiella* sp. proporcionou incremento na concentração de P do solo, respiração basal do solo, comprimento de raiz, massa fresca de parte aérea, e massa fresca e seca da raiz. Esses ganhos ocorreram com redução de 33% de adubação fosfatada, demonstrando a capacidade do isolado em disponibilizar P para as plantas de arroz. O mesmo isolado elevou, ainda, o teor de P nas raízes das plantas independentemente das doses de P utilizadas.

A inoculação do isolado AAC02 – *Enterobacter* sp. juntamente com a dose de 46,6 kg ha⁻¹ de P aumentou a respiração basal do solo e a massa fresca de parte aérea. A inoculação do

isolado AAC01 – *Pantoea* sp. aumentou a respiração basal do solo de forma linear até a dose de 70 kg ha⁻¹ de P e aumentou a massa fresca da raiz na dose de 46,6 kg ha⁻¹.

As doses de P aplicadas ao solo aumentaram linearmente o teor de P nas raízes e a massa seca de parte aérea até a dose de 70 kg ha⁻¹ e a altura das plantas até a dose de 46,6 kg ha⁻¹.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 471-479, 1989.
- BAKHSHANDEH, E.; PIRDASHTI, H.; LENDEH, K. S. Phosphate and potassium-solubilizing bacteria effect on the growth of rice. **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 103, n. 1, p. 164-169, jun. 2017.
- BRASIL. L. C. HERNANI. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. **Sistema plantio direto: microrganismos**. Microrganismos. 2022. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/sistema_plantio_direto/arvore/CONT000fwuzxobq02wyiv807fiqu9mw1rx0t.html. Acesso em: 20 fev. 2022.
- CANTARELLA, H.; FURLANI, P. R. Arroz de sequeiro. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; GUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Coord.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2 ed. Campinas: Instituto agrônomo e Fundação IAC, 1996. 285 p.
- CHERIF-SILINI, H.; THISSERA, B.; BOUKET, A. C.; SAADAOUI, N.; SILINI, A.; ESHELLI, M.; ALENEZI, F. N.; VALLAT, A.; LUPTAKOVA, L.; YAHIAOUI, B.; CHERRAD, S.; VACHER, S.; RATEB E. M.; BELBAHRI, L. Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *Pantoea agglomerans* with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 16, p. 1-36, ago. 2019.
- CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, R. P.; ARF, O. Produtividade de grãos e exportação de nutrientes de cultivares de arroz irrigadas por aspersão em consequência da época de semeadura. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 2, p.247-257, 2007.
- FAGERIA, N. K. Adubação e calagem. In: Santos, A. B.; Stone, L. F.; Vieira, N. R. A. (Ed.). **A Cultura do arroz no Brasil**. 2 Ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa arroz e feijão, 2006. p. 387- 423.
- FERREIRA, E. P. B.; KNUPP, A. M.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. Growth of rice cultivars (*Oryza sativa* L.) as affected by inoculation with plant growth-promoting bacteria. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 655-665, maio 2014.
- GAMA-RODRIGUES, E. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. A. *et al.* **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. Porto Alegre: Metrópoles, 2008. 654 p.
- IRFAN, M.; AZIZ, T.; MAQSOOD, M. A.; BILAL, H. M.; SIDDIQUE, K. H. M.; XU, M. Phosphorus (P) use efficiency in rice is linked to tissue-specific biomass and P allocation patterns. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 1-14, mar. 2020.
- KAUR, G.; REDDY, M. S. Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocal sites. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 61, p. 35-40, mar. 2014.

KUMAR, A.; MAURYA, B.R.; RAGHUWANSHI, R. Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Amsterdam, v. 3, n. 4, p. 121-128, out. 2014.

LI, X.; PENG, D.; ZHANG, Y.; JU, D.; C. GUAN. *Klebsiella* sp. PD3, a phenanthrene (PHE) - degrading strain with plant growth promoting properties enhances the PHE degradation and stress tolerance in rice plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Orlando, v. 201, n. 1, p. 1-15, set. 2020.

LIU, D. Root developmental responses to phosphorus nutrition. **Journal of Integrative Plant Biology**, Oxford, v. 63, n. 6, p. 1065-1090, abr. 2021.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997. 308 p.

MITRA, S.; PRAMANIK, K.; GHOSH, P. K.; SOREN, T.; ARKAR, A.; DEY, R. S.; PANDEY, S.; MAITI, T. K. Characterization of Cd-resistant *Klebsiella michiganensis* MCC3089 and its potential for rice seedling growth promotion under Cd stress. **Microbiological Research**, Jena, v. 210, n. 1, p. 12-25, maio 2018.

MONDO, V. H. V.; NASCENTE, A. S.; NEVES, P. de C. F.; TAILLEBOIS, J. E.; CARDOSO NETO, M. O. A. Formas de aplicação e doses de fósforo e efeitos na produtividade e no florescimento de linhagens parentais na produção de sementes de arroz híbrido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 9., 2015, Pelotas. **Anais [...]**. Pelotas: Sosbai, 2015. v. 1, p. 1-4.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N. K.; SOUZA, G. B.; FREITAS, A. R. Production, nutritional status and chemical properties of soils with addition of cattle manure, reactive natural phosphate and biotite schist in Massai cultivar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v. 39, n. 9, p. 1883-1888, set. 2010.

MORI, A.; FUKUDA, T.; VEJCHASARN, P.; NESTLER, J.; PARIASCA-TANAKA, J.; WISSUWA, M. The role of root size versus root efficiency in phosphorus acquisition in rice. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 4, p. 1179-1189, fev. 2016.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

RAJPUT, M. S.; IYER, B.; PANDYA, M.; JOG, R.; N. Kumar G.; RAJKUMAR, S. Derepression of mineral phosphate solubilization phenotype by insertional inactivation of *iclR* in *Klebsiella pneumoniae*. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 9, p. 1-15, set. 2015.

RAWAT, P.; SHANKHDHAR, D.; SHANKHDHAR, S. C. Synergistic impact of phosphate solubilizing bacteria and phosphorus rates on growth, antioxidative defense system, and yield characteristics of upland rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, p. 1-13, jul. 2021.

ROSLAN, M. A. M.; ZULKIFLI, N. N.; SOBRI, Z. M.; ZUAN, A. T. K.; CHEAK, S. C.; RAHMAN, N. A. A. Seed biopriming with P- and K-solubilizing *Enterobacter hormaechei* sp. improves the early vegetative growth and the P and K uptake of okra (*Abelmoschus esculentus*) seedling. **Plos One**, San Francisco, v. 15, n. 7, p. 1-41, jul. 2020.

SILVA, D. F.; TRINDADE, R. C. P.; OLIVEIRA, M. W.; FERRO, J. H. A.; CALHEIROS, A. S. Matéria seca, concentração e acúmulo de nutrientes em mamoneira, influenciados pelas doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, Recife, v. 6, n. 2, p. 273-279, jun. 2011.

SINGH, H.; REDDY, M. S. Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. **European Journal of Soil Biology**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p.30-34, 2011.

SONG, T.; XU, F.; WEI, Y.; CHEN, M.; HU, Q.; TIAN, Y.; ZHANG, J.; XU, W. Combining alternate wetting and drying irrigation with reduced phosphorus fertilizer application reduces water use and promotes phosphorus use efficiency without yield loss in rice plants. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 223, n. 1, p.1-12, 2019.

STEPHEN, J.; SHABANAMOL, S.; RISHAD, K. S.; JISHA, M. S. Growth enhancement of rice (*Oryza sativa*) by phosphate solubilizing *Gluconacetobacter* sp. (MTCC 8368) and *Burkholderia* sp. (MTCC 8369) under greenhouse conditions. **3 Biotech**, [S.L.], v. 5, n. 5, p. 831-837, mar. 2015.

SUNGTHONGWISES K.; IWAI, C. B.; MATSUOKA, M.; OHNISHI, K.; TANAKA, S. Isolation of Phosphate-Solubilizing bacteria from different fields crop productions. **International Journal of Environmental and Rural Development**, Tokyo, v. 3, n. 1, p. 150-154, abr. 2012.

VALADARES, R. B. S.; MESCOLOTTI, D. L. C.; CARDOSO, E. J. B. N. Micorrizas. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: Esalq, 2016. Cap. 12. p. 179-196.

WALPOLA, B. C.; ARUNAKUMARA, K. K. I. U.; MIN-HO, Y. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria (*Klebsiella oxytoca*) with enhanced tolerant to environmental stress. **African Journal of Microbiology Research**, Nairobi, v. 8, n. 31, p. 2970-2978, jul. 2014.

YU, X.; LIU, X.; ZHU, T. H.; LIU, G. H.; MAO, C. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 47, n. 4, p. 437-446, fev. 2011.

ZHANG, W.; WU, L.; WU, X.; DING, Y.; LI, G.; LI, J.; WENG, F.; LIU, Z.; S.TANG; DING, C.; WANG S. Lodging Resistance of Japonica Rice (*Oryza Sativa* L.): morphological and anatomical traits due to top-dressing nitrogen application rates. **Rice**, New York, v. 9, n. 1, p. 1-11, jul. 2016.

5 CAPÍTULO 3 – EXPERIMENTO EM CAMPO

RESUMO

A imobilização de fósforo (P) no solo, devido à sua alta reatividade, é um grande problema a ser solucionado, pois a falta deste nutriente interfere em processos fundamentais para o desenvolvimento das plantas. As bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) são capazes de mobilizar o P fixado, disponibilizando-o para absorção pelas plantas. Assim, esta pesquisa teve por objetivo avaliar a capacidade de isolados de BSF em disponibilizar P no solo, bem como, os efeitos da inoculação sobre arroz de terras altas cultivar BRS Esmeralda. Os isolados foram avaliados em ensaios em campo, em esquema fatorial 4 x 3 para as avaliações entre os tratamentos, e 4 x 3 + 2 para as comparações dos tratamentos às testemunhas, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de quatro doses de P com superfosfato simples (0; 23,3; 46,6 e 70 kg ha⁻¹), baseadas na utilização de 0, 1/3, 2/3 e 3/3 da dose recomendada para arroz de terras altas com a inoculação dos três isolados de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF)– *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp. Os tratamentos testemunha consistiram na aplicação de duas doses de P equivalentes a 0 e 70 kg ha⁻¹, sem inoculação. A inoculação de *Klebsiella* sp. associada à dose de 46,6 kg ha⁻¹ proporcionou teores de P do solo e de P foliar equivalentes, e teores de P dos grãos superiores, àqueles encontrados nas plantas não inoculadas e que receberam 70 kg ha⁻¹ de P. Em comparação aos demais isolados, o *Klebsiella* sp. garantiu maior número de panículas por metro quadrado e de grãos cheios e totais por panícula. As doses de P utilizadas aumentaram os teores de P dos grãos de arroz de forma linear.

Palavras- chave: solubilização de fosfato; *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp.; *Klebsiella* sp.; *Oryza sativa* L.

ABSTRACT

The immobilization of phosphorus (P) in the soil, due to its high reactivity, is a major problem to be solved, since the lack of this nutrient interferes in fundamental processes for the development of plants. Phosphate solubilizing bacteria (BSF) are able to mobilize fixed P, making it available for plant uptake. Thus, this research aimed to evaluate the ability of BSF isolates to provide P in the soil, as well as the effects of inoculation on upland rice cultivar BRS Esmeralda. The isolates were evaluated in field trials, in a 4 x 3 factorial scheme for the evaluations between treatments, and 4 x 3 + 2 for the comparisons of treatments to controls,

with four replications. The treatments consisted of the combination of four doses of P with simple superphosphate (0; 23.3; 46.6 and 70 kg ha⁻¹), based on the use of 0, 1/3, 2/3 and 3/3 of the recommended dose for upland rice with the inoculation of the three isolates of phosphate solubilizing bacteria (BSF) – *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. and *Klebsiella* sp. The control treatments consisted of the application of two doses of P equivalent to 0 and 70 kg ha⁻¹, without inoculation. The inoculation of *Klebsiella* sp. associated with the dose of 46.6 kg ha⁻¹ provided equivalent soil P and foliar P contents, and grain P contents higher than those found in non-inoculated plants that received 70 kg ha⁻¹ of P. Compared to the other isolates, *Klebsiella* sp. ensured a greater number of panicles per square meter and full and total grains per panicle. The P doses used increased the P contents of the rice grains in a linear way.

Key-words: phosphate solubilization; *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp.; *Klebsiella* sp.; *Oryza sativa* L.

5.1 INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é um nutriente importante para o desenvolvimento e para a produtividade das culturas afetando a divisão celular, a regulação de vias metabólicas e o crescimento. Sua deficiência no solo é considerada uma das principais restrições biofísicas para o rendimento das culturas (VANCE; UHDE-STONE; ALLAN, 2003; PANDA; RAHMAN; PANDA, 2016). São características próprias do P a sua imobilidade no solo, atribuída à lenta difusão e à capacidade de interagir fortemente com a maioria dos cátions (NUSSAUME *et al.*, 2011; NAUREEN *et al.*, 2018). A interação entre P e alguns cátions ocasiona a formação de complexos insolúveis no solo, precipitados que retiram o P da solução e o torna indisponível para a absorção pelas plantas. Estima-se que quase metade de todo o P aplicado na agricultura nos últimos 50 anos continue fixado no solo (WHITERS *et al.*, 2018).

Muitas bactérias e fungos possuem capacidade de mobilizar o P fixado liberando-o para a solução do solo, onde estará disponível para a absorção pelas plantas: são os solubilizadores de fosfato (SHARMA *et al.*, 2013; LONG *et al.*, 2018). As bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) conseguem liberar P a partir de fontes inorgânicas, como os fosfatos de cálcio e ferro, por meio da liberação de ácidos e enzimas, que também são eficientes nos processos de mineralização de fosfatos orgânicos (MADER *et al.*, 2011; ALORI; GLICK; BABALOLA, 2017). Dessa forma, os micro-organismos solubilizadores de fosfato têm sido considerados a melhor estratégia para viabilizar o uso do P fixado aos solos,

reduzindo a fertilização química e melhorando o suprimento para as plantas (BHATTACHARYYA; JHA, 2012; SHARMA *et al.*, 2013).

O arroz é uma das culturas alimentares mais importantes do mundo, fazendo parte da alimentação de, aproximadamente, 50% da população mundial (TAN; NORHAIZAN, 2020). É componente da base alimentar brasileira, sendo que o Brasil é o 9º maior produtor mundial, tendo produzido mais de 12 milhões de toneladas em 2017 (FAO, 2020). O P é extremamente importante para o crescimento e o desenvolvimento do arroz, sendo fator limitante para o perfilhamento e, conseqüentemente, o rendimento da cultura (CRUSCIOL; SORATTO; ARF, 2007; LONG *et al.*, 2018).

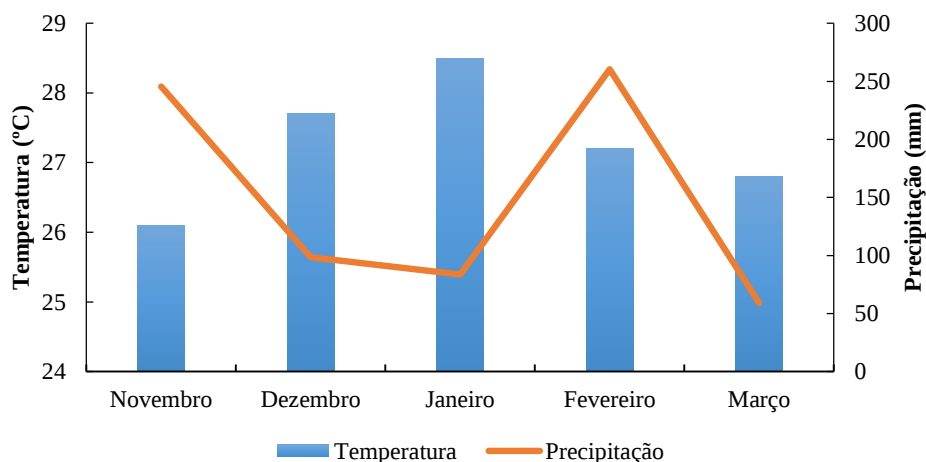
Diversos estudos têm obtido sucesso com a inoculação de BSF em gramíneas (MADER *et al.*, 2011; SINGH; REDDY, 2011; BENTO *et al.*, 2016), porém, pesquisas voltadas à inoculação em arroz são escassas. O estudo das interações entre planta e micro-organismos se faz importante para serem compreendidos os vários fatores envolvidos na seleção de estirpes de BSF eficientes para as grandes culturas (ALORI; GLICK; BABALOLA, 2017), constituindo um dos meios para a prevenção contra possíveis crises no suprimento de P e de alimentos.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da inoculação de BSF selecionadas, juntamente com diferentes doses de P, sobre o cultivo de arroz de terras altas cultivar BRS Esmeralda em solo de Cerrado.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na safra 2018/19, na Fazenda de Pesquisa, Ensino e Extensão da UNESP – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - SP, localizada no município de Selvíria-MS. A altitude média na região é de 335 m e o tipo climático é Aw, tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno, classificado de acordo com o sistema internacional de Köppen (ALVARES *et al.*, 2014). Possui médias anuais de precipitação de 1370 mm, temperatura de 23 °C e umidade relativa do ar entre 70 e 80%. Durante a condução do experimento foram coletados junto à estação meteorológica da UNESP os dados referentes à temperatura e precipitação pluviais médias mensais, apresentados na Figura 1.

Figura 1. Temperatura e precipitação pluvial médias durante o período experimental.



Fonte: Canal Clima Unesp.

O solo da área experimental, que era originalmente coberto por vegetação de Cerrado, foi classificado como LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico argiloso (EMBRAPA, 2013). O resultado da caracterização dos atributos químicos do solo, realizada antes da instalação do experimento (RAIJ *et al.*, 2001), apresentou os seguintes valores: pH $\text{CaCl}_2 = 5,0$; P (resina) $\text{mg dm}^{-3} = 25$; MO $\text{g dm}^{-3} = 18$; K^+ $\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3} = 0,7$; Ca^{2+} $\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3} = 19$; Mg^{2+} $\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3} = 16$; $\text{H}+\text{Al}$ $\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3} = 31$; Al^{3+} $\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3} = 1$; CTC $\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3} = 66,7$; V (%) = 54.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, em esquema fatorial 4×3 para as avaliações entre os tratamentos, e $4 \times 3 + 2$ para as comparações dos tratamentos às testemunhas, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de quatro doses de P (0; 23,3; 46,6 e 70 kg ha^{-1}), utilizando superfosfato simples, com a inoculação de três isolados de BSF (AAC01 – *Pantoea* sp.; AAC02 – *Enterobacter* sp.; AAC04 – *Klebsiella* sp.). Os tratamentos testemunhas consistiram na aplicação de duas doses de P (0 e 70 kg ha^{-1}) sem inoculação. Os blocos foram constituídos por cinco linhas com 5 m de comprimento, espaçadas 0,35 m entre si, considerando-se as três linhas centrais como área útil.

O preparo de solo da área experimental foi convencional. A adubação mineral aplicada nos sulcos de semeadura e de cobertura foi calculada de acordo com os atributos químicos do solo, levando-se em consideração as recomendações de Cantarella e Furlani (1996): 20 kg ha^{-1} de N na forma de sulfato de amônio e 60 kg ha^{-1} de K na forma de cloreto de potássio, juntamente com as doses de P. A adubação nitrogenada de cobertura foi feita de forma parcelada, aos 20 e 40 dias após a emergência das plantas (DAE), com 40 kg ha^{-1} de N na

forma de ureia, em cada aplicação. Antes da semeadura foi realizado o tratamento das sementes de arroz, visando o controle de pragas e doenças, com piraclostrobina (25 g L^{-1}) + tiofanato metílico (225 g L^{-1}) + fipronil (250 g L^{-1}), na dose de 2 mL kg^{-1} de semente.

A semeadura ocorreu em 22/11/2018, com 70 kg ha^{-1} de sementes do cultivar de arroz de terras altas BRS Esmeralda, utilizando semeadora manual. A inoculação de cada BSF foi realizada sobre as sementes no sulco de semeadura, na forma de jato dirigido com pulverizador costal manual, na dose de 400 mL ha^{-1} diluídos em água potável, em volume total de, aproximadamente, 300 L ha^{-1} . Os inoculantes foram preparados com a multiplicação individual de cada BSF em laboratório, em meio de cultura GL líquido (glicose 10 g L^{-1} , extrato de levedura 2 g L^{-1}), com incubação a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, sob agitação a 150 rpm por aproximadamente 18 horas, atingindo a concentração de $1,6 \times 10^9 \text{ UFC mL}^{-1}$.

Quando necessário utilizou-se para o fornecimento de água um sistema de irrigação por aspersão do tipo pivô central, com precipitação média de 13 mm . A emergência das plantas ocorreu em 26/11/2018. O manejo de plantas daninhas foi realizado utilizando herbicidas em pré-emergência (pendimetalin, 1.400 g ha^{-1} do i.a.) e em pós-emergência (metsulfuron-methyl, 2 g ha^{-1} do i.a.). As plantas daninhas não atingidas pelos herbicidas foram controladas com capina manual.

A colheita foi realizada manualmente no dia 11 de março de 2019, aos 109 DAE. O material colhido foi submetido à trilha mecânica, retirando-se os grãos e colocando-os em bandejas de papel para secagem natural à sombra até atingirem umidade próxima de 13%.

A avaliação dos atributos químicos do solo seguiu a metodologia proposta por Raij *et al.* (2001), com amostras compostas de quatro amostras simples de solo, por parcela. Estas foram coletadas na profundidade de 0,0 a 0,20 m na linha da cultura, homogeneizadas, peneiradas e secas ao ar.

O teor de P foliar foi avaliado, por ocasião do florescimento, pela coleta de vinte “folhas bandeira” por parcela. O teor de P dos grãos foi analisado a partir de amostras de 100 g de grãos polidos de cada parcela. As folhas e os grãos foram secos em estufa com circulação forçada de ar a $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 72 h , moídos em moinho tipo Wiley, e submetidos à digestão nítrico-perclórica seguida pela determinação analítica do P via colorimetria do metavanadato (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

A altura de plantas foi verificada no estádio de grãos na forma pastosa, em dez pontos ao acaso por parcela, na distância média compreendida entre a superfície do solo e a extremidade superior da panícula mais alta. O número de panículas foi calculado pela contagem do número de plantas em 1 m de linha de cada parcela, com conversão para m^2 . O

número total de grãos por panícula foi obtido por meio da contagem do número de grãos de 20 panículas por parcela, coletadas ao acaso no momento da colheita. Na sequência, foi realizada a separação dos grãos por fluxo de ar para a obtenção do número de grãos cheios e de grãos chochos.

Com a pesagem de amostras de grãos em casca da colheita de cada parcela, foram determinadas a massa de 100 grãos, a massa hectolétrica e a produtividade de grãos (kg ha^{-1}) com os teores de água corrigidos (13% base úmida).

O rendimento industrial foi avaliado por meio do processamento de uma amostra de 100 g de grãos de arroz em casca, por parcela, em engenho de prova por um minuto. Os grãos polidos foram pesados para a obtenção do rendimento de benefício e, a seguir, colocados em “Trieur” para a separação dos grãos por 30 segundos, obtendo-se o rendimento de grãos inteiros e grãos quebrados.

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Os efeitos da inoculação foram comparados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e os efeitos das doses de P foram avaliados por análise de regressão, adotando-se a equação com maior coeficiente de determinação ($p \leq 0,05$). A comparação às testemunhas ocorreu por meio do teste de Dunnet ($p \leq 0,05$).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As doses de P adicionadas ao solo e a inoculação dos três isolados de BSF não influenciaram significativamente os valores de pH, teor de matéria orgânica, teor de Al, de SB, na CTC e V% do solo (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de variância para pH, fósforo (P), matéria orgânica (MO), alumínio (Al), soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação por bases (V) do solo, fósforo foliar (P foliar) e fósforo do grão (P grão), para o cultivar de arroz BRS Esmeralda, em função de doses de fósforo (DP) e da inoculação de BSF¹. Safra 2018/19, Selvíria- MS.

Fontes de variação	pH CaCl ₂	P _{resina} mg dm ⁻³	MO g dm ⁻³	Al ----- mmol _c dm ³ -----	SB	CTC	V %	P foliar g kg ⁻¹	P grão g kg ⁻¹
Doses de fósforo (DP)									
0,0 kg ha ⁻¹	5,00	13,92	16,25	1,58	27,03	50,37	53,58	2,27	3,00
23,3 kg ha ⁻¹	5,14	17,67	16,50	1,00	30,41	52,16	58,17	2,33	3,37
46,6 kg ha ⁻¹	4,98	27,67	16,42	1,66	27,79	51,79	53,50	2,33	3,47
70,0 kg ha ⁻¹	5,01	26,83	16,25	1,83	27,62	50,95	53,92	2,29	3,72
Inoculação (Inoc)									
AAC01	4,96	20,38	16,25	1,94	26,09	49,91	52,06	2,21	3,16b
AAC02	5,11	20,06	16,19	1,00	29,76	52,01	57,13	2,30	3,23ab
AAC04	5,03	24,13	16,63	1,63	28,78	52,03	55,19	2,40	3,78a
Valores de F									
DP	1,00 ^{ns}	8,31 ^{**}	0,29 ^{ns}	0,97 ^{ns}	1,15 ^{ns}	0,98 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,72 ^{ns}	3,83 [*]
Inoc	1,46 ^{ns}	3,22 [*]	1,39 ^{ns}	2,25 ^{ns}	2,45 ^{ns}	2,95 ^{ns}	1,70 ^{ns}	11,84 ^{**}	3,23 [*]
DP x Inoc	0,56 ^{ns}	3,14 [*]	0,87 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,70 ^{ns}	1,22 ^{ns}	0,41 ^{ns}	3,56 [*]	1,35 ^{ns}
Média geral	5,03	21,52	16,35	1,52	28,21	51,32	54,79	2,30	3,39
C.V. (%)	5,15	17,72	4,91	36,17	17,20	5,68	14,31	4,61	22,49

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna por fonte de variação não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns}= não significativo. * e ** = significativos a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. C.V.= coeficiente de variação. ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

Fonte: elaboração do próprio autor.

Avaliando os efeitos de doses de adubação fosfatada (que variaram de 0 a 160 kg ha⁻¹) sobre os atributos químicos de um Argissolo Vermelho Amarelo distrófico, Lisboa, Heinrichs e Figueiredo (2017) também não encontraram diferenças significativas para estes mesmos parâmetros. Da mesma forma, Albuquerque *et al.* (2003) não verificaram alterações nestes atributos em função da aplicação de diferentes doses de P em Latossolo Bruno argiloso álico.

Para a inoculação de BSF, o espectro de ação desses micro-organismos no solo se concentra em área rizosférica de 0,2 a 1,0 mm em torno das raízes das plantas, o que pode dificultar a percepção de variações na fertilidade do solo quando este é amostrado “a granel”

(VANCE; UHDE-STONE; ALLAN, 2003; GOUDA *et al.*, 2018). Para o presente experimento, este efeito pode ter sido ainda mais acentuado tratando-se de área com única inoculação de BSF. Além disso, embora a solubilização de P esteja, na maioria das vezes, associada à acidificação do solo com consequente alteração no pH, existem outros mecanismos de atuação das BSF descritos na literatura.

A produção e a liberação de enzimas como fosfatases e fitases, a promoção de estímulos a processos metabólicos efetivos na solubilização e na mineralização de formas pouco disponíveis de P, e a produção de fito-hormônios com aumento da área superficial das raízes e promoção do crescimento de pelos radiculares constituem meios que promovem maior aquisição de P pelas plantas em função da inoculação de BSF (RICHARDSON *et al.*, 2011; SHARMA *et al.*, 2013; PII *et al.*, 2015).

Os teores de P no solo, nas folhas e nos grãos variaram em função das doses aplicadas e da inoculação de BSF (Tabela 2). Analisando o desdobramento da inoculação de BSF dentro das doses de P (Tabela 3), observa-se que a inoculação do isolado AAC01 proporcionou aumento nos teores de P do solo à medida em que houve aumento das doses da adubação fosfatada, ajustando-se ao modelo linear de regressão. A inoculação do isolado AAC04, juntamente com as doses mais elevadas (46,6 e 70 kg ha⁻¹) apresentou os maiores teores para o P do solo e o P foliar (Tabela 3).

O valor médio observado para o teor de P do solo, de 36,25 mg dm⁻³, na dose de P de 46,6 kg ha⁻¹ e inoculado com o isolado AAC04, com ponto máximo calculado para a dose de 55,28 kg ha⁻¹, atende à recomendação de Sousa, Rein e Santos Junior (2015), com teores acima de 35 kg ha⁻¹ para que culturas anuais em sistemas irrigados obtenham produtividade máxima. O maior teor de P foliar foi encontrado para este mesmo tratamento, com valor de 2,46 g kg⁻¹ de matéria seca para a dose de 46,6 kg ha⁻¹ e inoculado com AAC04, com ponto de máximo encontrado para a dose de 44,17 kg ha⁻¹. Em ambas as avaliações houve ajuste ao modelo quadrático de regressão demonstrando que o isolado AAC04 foi eficiente no processo de solubilização de P no solo, disponibilizando-o em quantidade adequada para a absorção pelas plantas com redução da adubação fosfatada (Tabela 3).

Tabela 3. Desdobramento da interação significativa da análise de variância para o teor de fósforo do solo (P) e de fósforo foliar (P foliar) para o cultivar de arroz BRS Esmeralda em função de doses de fósforo e da inoculação de BSF¹. Safra 2018/19, Selvíria- MS.

Inoculação	Doses de fósforo (kg ha ⁻¹)				Regressão	Valores de F
	0	23,3	46,6	70		
----- P resina (mg dm ⁻³) -----						
AAC01	12,25a	16,50a	24,50ab	28,25a	RL (1)	3,041*
AAC02	18,75a	20,00a	22,25b	19,25b	ns	0,136 ^{ns}
AAC04	10,75a	20,50a	36,25a	29,50a	RQ (2)	8,793**
Valores de F	1,031 ^{ns}	0,233 ^{ns}	3,221*	3,780*		
----- P foliar (g kg ⁻¹) -----						
AAC01	2,21a	2,24a	2,22b	2,18b	ns	0,237 ^{ns}
AAC02	2,30a	2,35a	2,29ab	2,27ab	ns	0,361 ^{ns}
AAC04	2,32a	2,39a	2,46a	2,41a	RQ (3)	3,294*
Valores de F	1,265 ^{ns}	2,323 ^{ns}	5,366**	5,047*		

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna por fonte de variação não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). RL= Regressão linear. RQ= Regressão quadrática. ^{ns}= não significativo. * e ** = significativos a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. (1) $\hat{y} = 0,24x + 11,98$ ($R^2 = 0,9795$); (2) $\hat{y} = -0,0032x^2 + 0,6233x + 8,99$ ($R^2 = 0,8777$); (3) $\hat{y} = -0,00006x^2 + 0,0053x + 2,314$ ($R^2 = 0,92$). ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

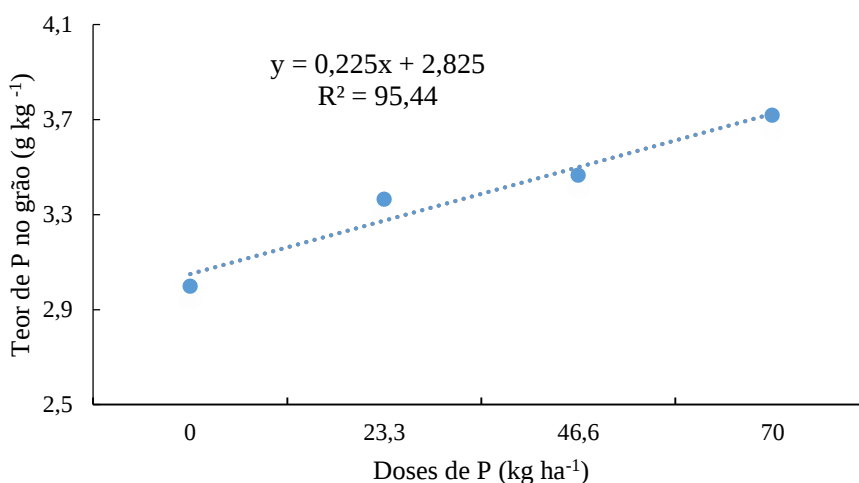
Fonte: elaboração do próprio autor.

Os resultados observados no presente trabalho endossam os que foram apresentados por Bento *et al.* (2016) que, estudando a inoculação de um conjunto de micro-organismos solubilizadores de fosfato (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*) em função de diferentes doses de P (variando de 0 a 160 kg ha⁻¹) na semeadura do milho, encontraram os teores mais elevados de P na parte aérea das plantas inoculadas associadas às doses de 40 e 80 kg ha⁻¹. De forma parecida, avaliando os efeitos da inoculação de fungo solubilizador de P sobre plantas de trigo, Singh e Reddy (2011) encontraram teores na parte aérea de plantas fertilizadas com 40 kg ha⁻¹ de P, até três vezes maiores que nos demais tratamentos.

Em pesquisa para avaliar os impactos da inoculação de BSF (*Bacillus licheniformis*, *Pantoea dispersa* e *Staphylococcus* sp.) juntamente com doses de P em plantas de arroz de terras altas, Rawat, Shankhdhar e Shankhdhar (2021) concluíram que a inoculação pode suprir até 50% do P necessário à planta, além de promover a melhoria de diversos parâmetros em comparação à adubação mineral.

Em relação ao teor de P dos grãos, houve ajuste ao modelo linear de regressão, verificando-se aumento nos teores à medida que houve aumento das doses de P (Figura 4).

Figura 4. Análise de regressão para os teores de P foliar para o cultivar de arroz BRS Esmeralda em função de doses de P. Safra 2018/19, Selvíria- MS.



Fonte: elaboração do próprio autor.

Este resultado corrobora os obtidos por Song *et al.* (2019), que avaliaram os efeitos da aplicação de doses de P ao solo variando de 0 a 90 kg ha⁻¹ sobre plantas de arroz e verificaram aumento linear nos teores de P dos grãos em função do aumento das doses. Neste sentido, Carneiro *et al.* (2008) observaram aumento nos teores de P em grãos de milho em função do aumento nas doses de superfosfato triplo aplicado no sulco de plantio. Ainda para o teor de P dos grãos, a inoculação de AAC04 proporcionou os maiores valores (Tabela 2). Este resultado está de acordo aos de Singh e Reddy (2011) e Estrada *et al.* (2012), que constataram que a inoculação de micro-organismos solubilizadores de P sobre plantas de trigo (*Penicillium oxalicum*) e arroz (*Herbaspirillum* sp. e *Burkholderia* sp.), respectivamente, aumentaram consideravelmente o conteúdo de P nos grãos.

O isolado AAC04 proporcionou aumento na concentração de P no solo, nas folhas e nos grãos, demonstrando boa adaptação às condições de campo e garantindo maior eficiência no uso do P pelas plantas. O sucesso no processo de solubilização em campo, de acordo com Sharma *et al.* (2013) e Mendes e Reis Junior (2003), depende de vários fatores, principalmente da resposta das BSF às condições ambientais em que foram inseridas. Em experimento avaliando a resposta de plantas de trigo à inoculação de diferentes micro-organismos solubilizadores de P (*Pseudomonas* spp.) sob diferentes condições de campo, Mader *et al.* (2011) relataram que a eficiência na solubilização de P para cada micro-organismo está relacionada à sua adaptabilidade em cada ambiente de cultivo, sendo possível obter aumento da eficiência no uso de P pelas plantas de até 95%.

A inoculação de AAC04 garantiu, ainda, maior número de panículas por metro quadrado, de grãos cheios e grãos totais por panícula (Tabela 4). O aumento na disponibilidade de P proporcionado por esse isolado certamente influenciou estes ganhos. A disponibilidade de P é extremamente importante para o perfilhamento do arroz, o que influencia diretamente o número de panículas por área (CRUSCIOL; SORATTO; ARF, 2007; GITTI *et al.*, 2012), além de ser essencial na formação e na qualidade dos grãos (BARBOSA FILHO, 1987).

Em estudo dos efeitos da inoculação de bactérias promotoras de crescimento (*Azospirillum* spp.) sobre plantas de arroz irrigado, Santos *et al.* (2015) reportaram que a inoculação proporcionou aumento do número de panículas com incrementos de até 12%. Entretanto, os autores não verificaram influência da inoculação sobre os grãos. Já Estrada *et al.* (2012), avaliando os efeitos da inoculação de BSF em arroz de terras altas, verificaram ganhos significativos sobre a qualidade dos grãos nos tratamentos inoculados. Eles atribuíram este resultado à disponibilidade de P, ao desenvolvimento radicular e à produção de fito-hormônios superiores, propiciados pelas BSF.

O número de panículas não variou em função das doses de P (Tabela 4). Avaliando a resposta de vinte cultivares de arroz de terras altas a doses variando de 0 a 200 kg ha⁻¹ de P em solo de Cerrado, Fageria *et al.* (2010) constataram que a variação do número de panículas por área depende do cultivar em estudo, podendo não haver resposta significativa para esta variável.

O fato de ter sido verificada uma resposta positiva do número de panículas à inoculação de BSF e o mesmo não ter ocorrido para as doses de P, pode ser explicado pelos mecanismos de ação destes micro-organismos, que não se restringem apenas à disponibilização de P, como mencionado anteriormente. Em pesquisa com a inoculação de micro-organismos promotores de crescimento (*Rhizobium* spp.) em três cultivares asiáticos de arroz, Chi *et al.* (2005) detectaram aumento nos níveis de fito-hormônios como auxina e giberilina nas plantas inoculadas. Estes autores apontaram interferência em vários processos fisiológicos pela alteração das concentrações de fito-hormônios em várias partes da planta e em diferentes momentos das fases de desenvolvimento.

Tabela 4. Análise de variância para altura de plantas, panículas por m², grãos cheios, grãos chochos e grãos totais por panícula para o cultivar BRS Esmeralda em função de doses de fósforo (DP) e da inoculação de BSF¹. Safra 2018/19, Selvíria- MS.

Fontes de variação	Altura de plantas cm	Panículas m ²	Grãos cheios ----- n° por panícula -----	Grãos chochos	Grãos totais
Doses de fósforo (DP)					
0,0 kg ha ⁻¹	97,50	305	144	17	161
23,3 kg ha ⁻¹	97,83	347	145	17	162
46,6 kg ha ⁻¹	97,06	331	142	16	158
70,0 kg ha ⁻¹	96,78	333	136	18	153
Inoculação (Inoc)					
AAC01	96,52	306b	141ab	16	157ab
AAC02	96,98	320ab	134b	16	151b
AAC04	98,37	363a	150a	18	167a
Valores de F					
DP	0,13 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,74 ^{ns}	1,03 ^{ns}	0,66 ^{ns}
Inoc	0,72 ^{ns}	3,88*	3,75*	1,12 ^{ns}	3,44*
DP x Inoc	0,38 ^{ns}	0,72 ^{ns}	1,02 ^{ns}	1,28 ^{ns}	1,02 ^{ns}
Média Geral	97,29	329	142	17	159
C.V. (%)	4,68	18,23	12,20	14,88	10,66

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna por fonte de variação não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns}= não significativo. * = significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. C.V.= coeficiente de variação. ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

Fonte: elaboração do próprio autor.

As doses de P e a inoculação de BSF não influenciaram a altura de plantas e o número de grãos chochos por panícula (Tabela 4). Para a altura de plantas, divergindo deste resultado, Singh e Reddy (2011) relataram maior crescimento de plantas de trigo e milho em função da inoculação de fungo solubilizador de fosfato e de doses de P, tendo sido utilizado rocha natural como fonte fosfato. Em concordância ao presente trabalho, Bento *et al.* (2016) e Oliveira *et al.* (2015) não reportaram diferenças significativas para a altura de plantas de milho submetidas à inoculação de BSF e doses de P mineral. As médias verificadas no presente trabalho para a altura de plantas se encontram dentro da faixa adequada ao cultivar

BRS Esmeralda, entre 95 e 108 cm (CASTRO *et al.*, 2014). Para o número de grãos chochos por panícula, os valores se assemelharam àqueles observados por Buzo *et al.* (2019) que estudaram o cultivar BRS Esmeralda no mesmo tipo de solo e condições ambientais.

As doses de P e a inoculação de BSF não influenciaram a produtividade do arroz (Tabela 5).

Tabela 5. Análise de variância para produtividade, massa hectolétrica, massa de 100 grãos, rendimento de benefício, grãos inteiros e grãos quebrados para o arroz cultivar BRS Esmeralda em função de doses de fósforo (DP) e da inoculação de BSF¹. Safra 2018/19, Selvíria- MS.

Fontes de variação	Produtividade kg ha ⁻¹	Massa hectolétrica kg	Massa de 100 grãos g	Rendimento de benefício ----- % -----	Grãos inteiros	Grãos quebrados
Doses de fósforo (DP)						
0,0 kg ha ⁻¹	5.533	43,63	2,51	61,42	57,05	3,34
23,3 kg ha ⁻¹	5.676	44,80	2,52	59,00	56,39	2,78
46,6 kg ha ⁻¹	5.562	44,23	2,57	58,90	55,88	3,03
70,0 kg ha ⁻¹	5.677	44,07	2,49	62,04	57,83	3,21
Inoculação (Inoc)						
AAC01	5.659	45,03	2,53	59,94	56,64	3,30
AAC02	5.473	43,45	2,53	59,67	55,71	3,56
AAC04	5.854	44,08	2,51	61,41	58,01	3,50
Valores de F						
DP	0,10 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,72 ^{ns}	1,12 ^{ns}	0,35 ^{ns}	1,77 ^{ns}
Inoc	0,94 ^{ns}	1,14 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,88 ^{ns}	1,14 ^{ns}
DP x Inoc	0,61 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,41 ^{ns}	1,44 ^{ns}
Média Geral	5.633	44,18	2,52	60,34	56,79	3,25
C.V. (%)	13,93	6,74	6,09	8,82	8,73	15,02

Nota: ^{ns}= não significativo. C.V.= coeficiente de variação. ¹ = Bactérias solubilizadoras de fosfato.

Fonte: elaboração do próprio autor.

Para as doses de P, este resultado está de acordo com Carneiro *et al.* (2008) e Oliveira *et al.* (2015) que pesquisaram a resposta de plantas de milho à fertilização com doses de P que variaram de 180 a 540 kg ha⁻¹ e de 0 a 160 kg ha⁻¹, respectivamente, e não observaram

diferenças na produtividade de grãos. De acordo com Martinez *et al.* (2003), em solos com teores acima do nível crítico, a probabilidade de ocorrer aumento na produtividade das culturas pela adição do nutriente ao solo, é baixa. No presente trabalho, o teor inicial de P do solo de 25 mg dm⁻³ é considerado adequado para culturas anuais em sistemas irrigados (SOUSA; LOBATO, 2003), o que pode explicar a ausência de resposta para a produtividade em função das doses de P.

Para a inoculação com BSF, embora não encontradas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, foi possível observar diferença numérica na produtividade para o tratamento inoculado com o isolado AAC04, com a maior média. Este resultado demonstra a coerência dos dados nesta pesquisa, uma vez que este mesmo isolado proporcionou aumento do teor de P foliar, do solo e dos grãos, aumento do número de panículas por área e do número de grãos cheios e totais por panícula. Os resultados da inoculação de BSF sobre a produtividade de cereais têm se mostrado divergentes, com relatos de acréscimos de produtividade para trigo, arroz e milho (SINGH; REDDY, 2011; ESTRADA *et al.*, 2012; SHAHZAD *et al.*, 2017) e ausência de resposta para arroz e milho (MADER *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2015). Contudo, é consenso entre os pesquisadores que a resposta das plantas à inoculação pode variar em função do genótipo, das condições ambientais e da interação entre a planta e a bactéria.

A massa hectolétrica e a massa de 100 grãos também não responderam aos tratamentos utilizados (Tabela 5). Em concordância ao presente resultado, Oliveira *et al.* (2015) e Garé *et al.* (2017) ao estudarem os efeitos da inoculação de micro-organismos promotor de crescimento (*Pseudomonas fluorescens* e *Azospirillum brasilense*, respectivamente) sobre as características produtivas de arroz de terras altas, não verificaram diferenças significativas sobre a massa hectolétrica e a massa de 100 grãos. Em pesquisa avaliando a influência de doses de P de 20 a 120 kg ha⁻¹ sobre diferentes genótipos de arroz de terras altas, Fidelis *et al.* (2013) não detectaram diferenças significativas para estes parâmetros. As médias aqui obtidas se assemelham àquelas observadas por Sales *et al.* (2019), que estudaram o cultivar BRS Esmeralda no mesmo tipo de solo nas mesmas e condições ambientais do presente experimento.

O rendimento de benefício e as porcentagens de grãos inteiros e de grãos quebrados também não variaram em função dos tratamentos utilizados (Tabela 5). As porcentagens observadas no presente estudo para o rendimento de benefício, estão dentro da faixa máxima obtida para o cultivar BRS Esmeralda, em torno de 62% (CASTRO *et al.*, 2014). Nacionalmente, é atribuído ao arroz em casca uma renda base no benefício de 68%,

constituída de 40% de grãos inteiros e de 28% de grãos quebrados (FORNASIERI FILHO; FORNASIERI, 2006). No entanto, é de extrema importância econômica que o percentual de grãos inteiros seja o maior possível em detrimento ao número de grãos quebrados, especialmente pela diferença de valor agregado ao produto. Os valores encontrados neste trabalho para estes parâmetros podem ser considerados excelentes, uma vez que se adequam ao limite estabelecido pelo Ministério da Agricultura para a comercialização de arroz tipo 1, de até 10% de grãos quebrados (CASTRO *et al.*, 1999).

A análise comparativa de cada um dos tratamentos às testemunhas retornou resposta significativa apenas para os teores de P foliar, do solo e dos grãos (Tabela 6). A inoculação do isolado AAC01 juntamente com as doses de 46,6 e 70,0 kg ha⁻¹ de P elevou os teores deste nutriente no solo em comparação à testemunha sem P. Porém, todos os tratamentos com inoculação deste isolado não diferiram para teores de P foliar e do grão em relação às testemunhas.

Os tratamentos inoculados com o isolado AAC02 não diferiram em comparação às testemunhas para os teores de P do solo e do grão, independente da dose de P utilizada. Para o teor de P foliar, todos os tratamentos com a inoculação deste isolado apresentaram maiores médias em comparação à testemunha sem P (Tabela 6).

O fato de ocorrer aumento no teor de P foliar e o mesmo não acontecer para o P do solo pode ser explicado pela absorção do nutriente pelas plantas e pelo fato de que muitos micro-organismos imobilizam o nutriente no solo em razão de sua multiplicação e crescimento, e isso não significa que não existam atividades em benefício da planta (GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES, 2008). A falta de resposta para o teor de P nos grãos pode ter acontecido pelo nível de interferência ocasionada pelo isolado AAC02 à planta, visto que a interferência pode acontecer em diferentes partes da planta e em diferentes fases de desenvolvimento (CHI *et al.*, 2005). Assim, esta combinação de resultados pode indicar baixa afinidade entre o isolado e a planta.

A inoculação de AAC04 juntamente com as doses de 46,6 e 70,0 kg ha⁻¹ de P promoveu aumento dos teores de P do solo e do grão em relação ao tratamento testemunha sem P. Ainda em relação a esta testemunha para o teor de P foliar, este isolado promoveu aumentos dos teores, independente da dose de P utilizada (Tabela 6).

Tabela 6. Análise de variância comparativa entre os tratamentos e as testemunhas para fósforo do solo (P), fósforo foliar (P foliar) e fósforo nos grãos (P grão) para o arroz cultivar BRS Esmeralda. Safra 2018/19, Selvíria- MS.

Inoculação	Dose de P	P (resina) mg dm ⁻³	P foliar g kg ⁻¹	P grão g kg ⁻¹
Não inoculado	0,0 kg ha ⁻¹	11,50b	2,20b	2,98b
Não inoculado	70,0 kg ha ⁻¹	43,25A	2,47A	3,31B
AAC01	0,0 kg ha ⁻¹	12,25bB	2,21bB	2,98bB
AAC01	23,3 kg ha ⁻¹	16,50bB	2,24bB	3,00bB
AAC01	46,6 kg ha ⁻¹	24,50aB	2,22bB	3,35bB
AAC01	70,0 kg ha ⁻¹	28,25aA	2,18bB	3,30bB
AAC02	0,0 kg ha ⁻¹	18,75bB	2,30aA	2,53bB
AAC02	23,3 kg ha ⁻¹	20,00bB	2,35aA	3,18bB
AAC02	46,6 kg ha ⁻¹	22,25bB	2,29aA	2,95bB
AAC02	70,0 kg ha ⁻¹	19,25bB	2,27aA	3,78bB
AAC04	0,0 kg ha ⁻¹	10,75bB	2,32aA	3,50bB
AAC04	23,3 kg ha ⁻¹	16,50bB	2,39aA	3,88bB
AAC04	46,6 kg ha ⁻¹	36,25aA	2,46aA	4,67aA
AAC04	70,0 kg ha ⁻¹	35,00aA	2,41aA	4,30aA
Valores de F		3,90*	3,27*	3,51*
Média geral		21,97	2,32	3,40
C.V. (%)		28,63	4,57	23,58

Nota: * significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. C.V.= coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade. Médias seguidas por letra minúscula na coluna comparam com o tratamento testemunha sem inoculação e sem fósforo. Médias seguidas por letra maiúscula na coluna comparam com o tratamento testemunha não inoculado + 70 kg ha⁻¹ de fósforo.

Fonte: elaboração do próprio autor.

Não houve diferença entre a testemunha com P e os tratamentos inoculados com AAC04 nas doses de P de 46,6 e 70,0 kg ha⁻¹ para P do solo e P foliar. Adicionalmente, os teores de P nos grãos elevaram para estes mesmos tratamentos nesta comparação. Este isolado demonstrou ter, de fato, atuado na disponibilização de P às plantas com médias maiores para o P do grão e com médias para o P do solo e o P foliar que não diferiram da testemunha com P,

mesmo na dose de 46,6 kg ha⁻¹ de P (inferior à dose do tratamento testemunha de 70 kg ha⁻¹). Esta combinação de resultados indica que houve afinidade entre AAC04 e a planta, resultando no uso eficiente do nutriente.

Embora não tenham sido verificados ganhos significativos em produtividade com a inoculação deste isolado, os incrementos no teor de P dos grãos são muito importantes do ponto de vista nutricional, visto que o arroz é um dos alimentos mais consumidos mundialmente e a sua biofortificação é considerada um dos principais meios para conter a desnutrição no mundo (MASCARENHAS, 2019).

5.4 CONCLUSÕES

A inoculação com AAC04 – *Klebsiella* sp. em arroz de terras altas associada à dose de 46,6 kg ha⁻¹ proporcionou teores de P do solo e de P foliar equivalentes, e teores de P dos grãos superiores, àqueles encontrados nas plantas não inoculadas e que receberam 70 kg ha⁻¹ de P.

Em comparação aos demais isolados, o AAC04 – *Klebsiella* sp. promoveu maior número de panículas por metro quadrado e de grãos cheios e totais por panícula.

As doses de P utilizadas aumentaram os teores de P dos grãos de arroz de forma linear.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J. A.; BAYER, C.; ERNANI, P. R.; MAFRA, A. L.; FONTANA, E. C. Aplicação de calcário e fósforo e estabilidade da estrutura de um solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 5, p.799-806, 2003.
- ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, n. 971, p.1-8, 2017.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2014.
- BARBOSA FILHO, M. P. **Nutrição e adubação do arroz**: sequeiro e irrigado. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1987. 129 p.
- BENTO, R. U.; PELÁ, A.; RIBEIRO, M. A.; SILVA, J. A. G.; CRUZ, S. J. S. Contribuição de bioestimulantes contendo microrganismos rizosféricos na absorção de fósforo pelo milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 3, p.572-581, 2016.
- BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 28, n. 4, p.1327-1350, 2012.
- BUZO, F. S.; GARÉ, L. M.; ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; MEIRELLES, F. C.; GARCIA, N. F. S. Interaction between thidiazuron and *Azospirillum brasilense* on yield characteristics and productivity of rice. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 23, n. 4, p.244-249, abr. 2019.
- CANTARELLA, H.; FURLANI, P. R. Arroz de sequeiro. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; GUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Coord.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2 ed. Campinas: Instituto agrônomo e Fundação IAC, 1996. 285 p.
- CARNEIRO, L. F.; FURTINI NETO, A. E.; RESENDE, A. V.; CURI, N.; SANTOS, J. Z. L.; LAGO, F. J. Fontes, doses e modos de aplicação de fósforo na interação fósforo- zinco em milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p.1133-1141, 2008.
- CASTRO, A. P.; MORAIS, O. P.; BRESEGHELLO, F.; LOBO, V. L. S.; GUIMARÃES, C. M.; BASSINELLO, P. Z.; COLOMBARI FILHO, J. M.; SANTIAGO, C. M.; FURTINI, I. V.; TORGA, P. P.; UTUMI, M. M.; PEREIRA, J. A.; CORDEIRO, A. C. C.; AZEVEDO, R.; SOUSA, N. R. G.; SOARES, A. A.; RADMANN, V.; PETERS, V. J. **BRS Esmeralda: cultivar de arroz de terras altas com elevada produtividade e maior tolerância à seca**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2014. 4 p. (Comunicado técnico, 215).
- CASTRO, E. M.; VIEIRA, N. R. A.; RABELO, R. R.; SILVA, S. A. **Qualidade de grãos em arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 30p. (Circular Técnica, 34).

CHI, F.; SHEN, S. H.; CHENG, H. P.; JING, Y. X.; YANNI, Y. G.; DAZZO, F. B. Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 11, p.7271-7278, 2005.

CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, R. P.; ARF, O. Produtividade de grãos e exportação de nutrientes de cultivares de arroz irrigadas por aspersão em consequência da época de semeadura. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 2, p.247-257, 2007.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - Embrapa. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353 p.

ESTRADA, G. A.; BALDANI, V. L. D.; OLIVEIRA, D. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 369, n. 1-2, p.115-129, 2012.

FAGERIA, N. K. Adubação e calagem. In: Santos, A. B.; Stone, L. F.; Vieira, N. R. A. (Ed.). **A Cultura do Arroz no Brasil**. 2 ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa arroz e feijão, 2006. p. 387- 423.

FAGERIA, N. K.; MORAIS, O. P.; SANTOS, A. B.; VASCONCELOS, M. J. V. Eficiência de uso de fósforo por genótipos de arroz de terras altas. In: FERTBIO, 2010, Guarapari, **Anais [...]**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2010. p. 1 – 3.

FANKEM, H.; MAFOKOUA, H. L.; NKOT, L. N.; SIMO, C.; DONDJOU, D. T.; TCHAKOUNTE, G. V. T.; NWAGA, D.; ETOA, F. X. Biodiversity of the phosphate solubilizing microorganisms (PSMs) population from the rice rhizosphere soils of the two agroecological zones of Cameroon. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, Cameroon, v. 9, n. 5, p.2284-2299, 2016.

FANKEM, H.; NWAGA, D.; DEUBEL, A.; DIENG, L.; MERBACH, W.; ETOA, F. X. Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (*Elaeis guineensis*) rhizosphere in Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 5, n. 24, p.2450-2460, 2006.

FIDELIS, R. R.; PINTO, L. C.; SANTOS, M. M.; FACCIROLLI, A. M.; BRANDÃO, D. R.; SCHEIDT, G. Efeito do fósforo em genótipos de arroz em solos de Cerrado. **Científica**, Jaboticabal, v. 41, n. 1, p.46-51, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES - FAO. **Rankings**: Countries by commodity. 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countriesbycommodity>>. Acesso em: 10 fev. 2020.

FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J. L. **Manual da cultura do arroz**. Jaboticabal: Funep, 2006. 589 p.

GAMA-RODRIGUES, E. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. Porto Alegre: Metrópoles, 2008. 654 p.

GARÉ, L. M.; BUZO, F. S.; ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; SILVEIRA, T. L. S.; MEIRELLES, F. Influência do Thidiazuron e da inoculação com *Azospirillum brasilense* no crescimento e produtividade do arroz de terras altas. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Tupã, v. 11, n. 4, p.326-339, 2017.

GITTI, D. C.; ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; CORSINI, D. C. D. C.; RODRIGUES, R. A. F.; KANEKO, F. H. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* em arroz de terras altas no sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 4, p.509-517, 2012.

GOUDA, S.; KERRY, R. G.; DAS, G.; PARAMITHIOTIS, S.; SHIN, H. S.; PATRA, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 206, n. 1, p.131-140, 2018.

LISBOA, L. A. M.; HEINRICHS, R.; FIGUEIREDO, P. A. M. Efeitos da fosfatagem nos atributos químicos do solo e produção de cana-de-açúcar para forragem. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 74, n. 3, p.213-220, 2017.

LONG, X. E.; YAO, H.; HUANG, Y.; WEI, W.; ZHU, Y. G. Phosphate levels influence the utilization of rice rhizodeposition carbon and the phosphate-solubilizing microbial community in a paddy soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 118, n. 1, p.103-114, 2018.

MADER, P.; KAISER, F.; ADHOLEYA, A.; SINGH, R.; UPPAL, H. S.; SHARMA, A. K.; SRIVASTAVA, R.; SAHAI, V.; ARAGNO, M.; WIEMKEN, A.; JOHRI, B. N.; FRIED, P. M. Inoculation of root microorganisms for sustainable wheat–rice and wheat–black gram rotations in India. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 43, n. 3, p. 609-619, 2011.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997. 308 p.

MARTINEZ, H. E. P.; MENEZES, J. F. S.; SOUZA, R. B.; VENEGAS, V. H. A.; GUIMARÃES, P. T. G. Faixas críticas de concentrações de nutrientes e avaliação do estado nutricional de cafeeiros em quatro regiões de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 6, p.703-713, 2003.

MASCARENHAS, K. **Super Arroz: pesquisas utilizam a biofortificação para melhorar as concentrações de nutrientes no cereal**. [S. l.], 2019. Disponível em: <https://ufla.br/noticias/pesquisa/12980-super-arroz-pesquisas-utilizam-a-biofortificacao-para-melhorar-as-concentracoes-de-nutrientes-no-cereal>. Acesso em: 29 fev. 2020.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B. **Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. 26 p. (Documentos, 85).

NAUREEN, Z.; SHAM, A.; ASHRAM, H. A.; GILANI, S. A.; GHEILANI, S. A.; MABOOD, F.; HUSSAIN, J.; HARRASI, A. A.; ABUQAMAR, S. F. Effect of phosphate nutrition on growth, physiology and phosphate transporter expression of cucumber seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 127, n. 1, p.211-222, 2018.

NUSSAUME, L.; KANNO, S.; JAVOT, H.; MARIN, E.; POCHON, N.; AYADI, A.; NAKANISHI, T. M.; THIBAUD, M. C. Phosphate import in plants: focus on the PHT1 transporters. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 2, n. 1, p.1-12, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; ZUCARELI, C.; FERREIRA, A. S.; DOMINGUES, A. R.; SPOLAOR, L. T.; NEVES, C. S. V. J. Adubação fosfatada associada à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* no desempenho agrônômico do milho. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 38, n. 1, p.18-25, 2015.

PANDA, B.; RAHMAN, H.; PANDA, J. Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of Eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens. **Rhizosphere**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p.62-71, 2016.

PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, N.; TERZANO, R.; CESCO, S.; CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 51, n. 4, p.403-415, 2015.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.

RAWAT, P.; SHANKHDHAR, D.; SHANKHDHAR, S. C. Synergistic impact of phosphate solubilizing bacteria and phosphorus rates on growth, antioxidative defense system, and yield characteristics of upland rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, p. 1-13, jul. 2021.

RIBEIRO, V. P.; ALMEIDA, C. N. S.; MATTOS, B. B.; OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A.; MARRIEL, I. E. Potencial de solubilização de fosfato de ferro in vitro e produção de sideróforos por microrganismos endofíticos da cultura de Milho. In: FERTBIO, 2014, Araxá. **Anais [...]**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2014. 1 p.

RICHARDSON, A. E.; LYNCH, J. P.; RYAN, P. R.; DELHAIZE, E.; SMITH, F. A.; SMITH, S. E.; HARVEY, P. R.; RYAN, M. H.; VENEKLAAS, E. J.; LAMBERS, H.; OBERSON, A.; CULVENOR, R. A.; SIMPSON, R. J. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 349, n. 1-2, p.121-156, 2011.

SALES, L. Z. S.; ARF, O.; GARÉ, L. M.; GARCIA, N. F. S.; BUZO F. S.; SILVA, P. H. G.; MARTINS, J. O. M.; GATO, I. M. B.; GOMES, B. A.; MARTINS, J. T.; OLIVEIRA, J. A.; BASSI, M. H. M. Resposta do arroz de terras altas à épocas de aplicação e doses de zinco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 11., 2019, Balneário Camboriú. **Anais [...]** Itajaí: Epagri/ Sosbai, 2019. p. 410-413.

SANTOS, H. O.; BOTELHO, F. B. S.; FONSECA, A. C. A.; UENOJO, R. K.; MENDES, M. P.; PINHO, E. V. R. V. Quality of seeds of upland rice lines adapted to the state of Minas Gerais, Brazil. **American Journal of Plant Sciences**, San Luis, Missouri, v. 06, n. 12, p. 1920-1927, ago. 2015.

SHAHZAD, S. M.; ARIF, M. S.; RIAZ, M.; ASHRAF, M.; YASMEEN, T.; ZAHEER, A.; BRAGAZZA, L.; BUTTLER, A.; ROBROEK, B. J. M. Interaction of compost additives with phosphate solubilizing rhizobacteria improved maize production and soil biochemical properties under dryland agriculture. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 174, n. 1, p.70-80, 2017.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springerplus**, Switzerland, v. 2, n. 1, p.1-14, 2013.

SINGH, H.; REDDY, M. S. Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 47, n. 1, p.30-34, 2011.

SONG, T.; XU, F.; WEI, Y.; CHEN, M.; HU, Q.; TIAN, Y.; ZHANG, J.; XU, W. Combining alternate wetting and drying irrigation with reduced phosphorus fertilizer application reduces water use and promotes phosphorus use efficiency without yield loss in rice plants. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 223, n. 1, p.1-12, 2019.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Adubação fosfatada em solos da região do Cerrado**. 102. ed. Piracicaba: Associação Brasileira Para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 2003. 16 p.

SOUSA, D. M. G.; REIN, T. A.; SANTOS JUNIOR, J. D. G. **Manejo da adubação fosfatada para culturas anuais no Cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2016. 10 p. (Circular técnica, 33).

TAN, B. L.; NORHAIZAN, M. E. **Rice by-products: phytochemicals and food products application**. Switzerland: Springer, 2020. 129 p.

UTINO, S.; FRANCO, D. F.; COSTA, S. V.; MAGALHÃES, A. M.; PETERS, V. J.; SILVA, M. G. **Produção de sementes**. 2020. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000foh66zuv02wyiv8065610dhn0auj1.html>. Acesso em: 20 jan. 2020.

VANCE, C. P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D. L. Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist**, Oxford, v. 157, n. 3, p.423-447, 2003.

WITHERS, P. J. A.; RODRIGUES, M.; SOLTANGHEISI, A.; CARVALHO, T. S.; GUILHERME, L. R. G.; BENITES, V. M.; GATIBONI, L. C.; SOUSA, D. M. G.; NUNES, R. S.; ROSELEM, C. A.; ANDREOTE, F. D.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; COUTINHO, E. L. M.; PAVINATO, P. S. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, London, v. 8, n. 1, p.1-13, 2018.

6 CONCLUSÃO GERAL

A prospecção de bactérias solubilizadoras de fosfato permitiu selecionar três cepas com alto potencial para uso agrícola, identificadas como *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp. Estas apresentaram capacidade de solubilização *in vitro* para fosfato de cálcio e de ferro, não ocasionaram danos à germinação e emergência de sementes de arroz, além de terem aumentado o comprimento e a massa fresca das raízes.

A inoculação do isolado AAC04 (*Klebsiella* sp.) propiciou ganhos significativos tanto no experimento em casa de vegetação, quanto no experimento em campo. Em casa de vegetação, aumentou-se a concentração de P do solo, respiração basal do solo, comprimento de raiz, massa fresca de parte aérea, e massa fresca e seca da raiz com cerca de 33% de redução de adubação fosfatada. Elevou, ainda, o teor de P nas raízes das plantas independentemente das doses de P. No experimento em campo a inoculação de AAC04 associado a dose de 46,6 kg ha⁻¹ proporcionou teores de P do solo e de P foliar equivalentes, e teores de P dos grãos superiores àqueles encontrados nas plantas não inoculadas e fertilizadas com 70 kg ha⁻¹ de P. Em comparação aos demais isolados, o AAC04 proporcionou maior número de panículas por metro quadrado e de grãos cheios e totais por panícula.

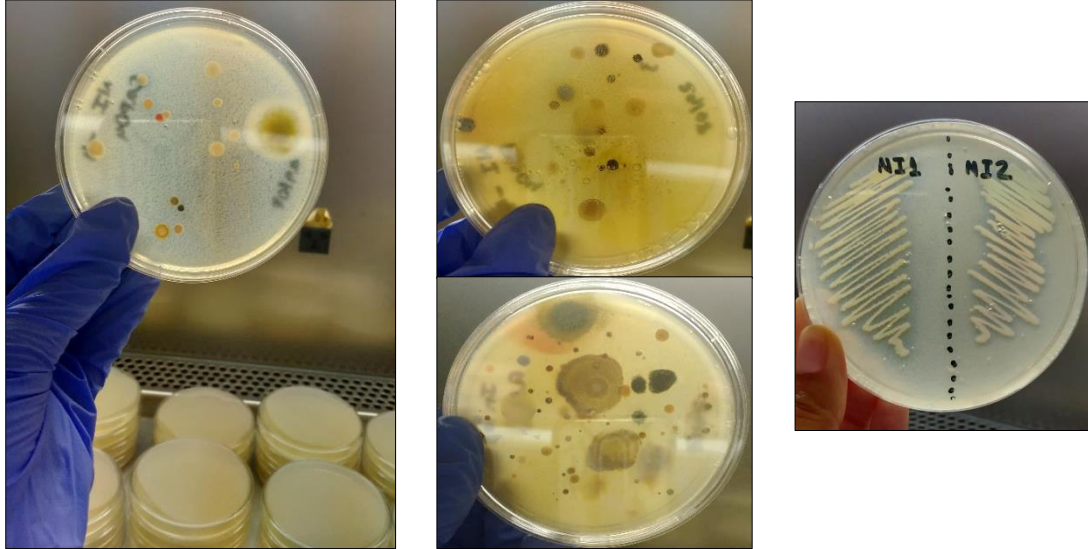
O isolado de *Klebsiella* sp. demonstrou grande potencial para a solubilização de P e promoção do crescimento de plantas. Para os próximos passos, recomenda-se testar a inoculação juntamente com diferentes doses de P, a fim de se recomendar doses ótimas de P a serem empregadas para arroz de terras altas. Além disso, o isolado pode ser testado em outras culturas e ambientes de cultivo, gerando dados robustos para a concreta indicação da utilização, ou não, do isolado em ambientes de cultivo.

No experimento em casa de vegetação, a inoculação do isolado AAC02 (*Enterobacter* sp.) juntamente com a dose de 46,6 kg ha⁻¹ de P aumentou a respiração basal do solo e a massa fresca de parte aérea. A inoculação do isolado AAC01 (*Pantoea* sp.) incrementou a respiração basal do solo de forma linear até a dose de 70 kg ha⁻¹ de P e aumentou a massa fresca da raiz na dose de 46,6 kg ha⁻¹. No entanto, no experimento em campo esses isolados não mantiveram efeitos tão pronunciados. Para trabalhos futuros, a co-inoculação destes dois isolados merece ser estudada, visando ampliar o potencial de ganhos obtidos quando os micro-organismos são utilizados separadamente.

As doses de P utilizadas aumentaram os teores de P dos grãos de arroz, o teor de P nas raízes, a massa seca de parte aérea e a altura das plantas.

APÊNDICE A – FOTOS DA PESQUISA

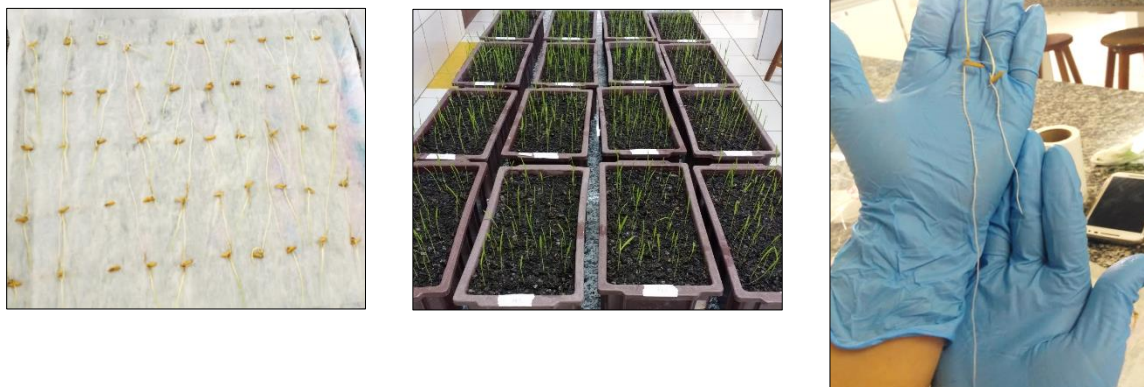
1. Isolamento das bactérias solubilizadoras de fosfato.



2. Placas do ensaio de solubilização (o corante foi adicionado ao meio apenas para fazer as fotos).



3. Teste de germinação e emergência de plântulas.



4. Experimento em vasos – semeadura,

desbaste e colheita.



5. Experimento em campo – condução e colheita.

