



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ.
CAMPUS PEDRO II
CURSO LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARDÔNIO MAGALHÃES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA
EMERGÊNCIA E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS**

PEDRO II
2021

MARDÔNIO MAGALHÃES DA SILVA

AVALIAÇÃO DA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA
EMERGÊNCIA E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção
do diploma do Curso de licenciatura em ciências
biológicas do Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia do Piauí. Campus Pedro II

Orientador: Prof. Dr^a. Marineide Rodrigues do
Amorim

PEDRO II
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silva, Mardônio Magalhães da

S586a Avaliação da inoculação de bactérias diazotróficas na emergência e desenvolvimento de plantas / Mardônio Magalhães da Silva. - 2021.
31 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Pedro II, 2021.

Orientadora : Profa Dra. Marineide Rodrigues do Amorim.

1. Bactéria diazotrófica. 2. Crescimento Vegetal. 3. Germinação. I. Título.

CDD - 570

Elaborado por Wirllanna Naira da Silva Torres CRB 3/1088

MARDÔNIO MAGALHÃES DA SILVA

AVALIAÇÃO DA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA
EMERGÊNCIA E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção
do diploma do Curso de licenciatura em ciências
biológicas do Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia do Piauí. Campus Pedro II.

Orientador: Prof. Dr^a. Marineide Rodrigues do
Amorim

Aprovada em: 22 / 05 / 2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Marineide Rodrigues do Amorim (Orientador)
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof. Dr. Etielle Barroso de Andrade
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof. Dr. João Pedro Alves de Aquino
Universidade Federal do Piauí

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado coragem para enfrentar todos os problemas durante essa caminhada.

Aos meus pais pelo apoio, pelo carinho, pela palavra amiga em todos os momentos da minha vida em especial nesses 4 anos de curso.

Aos meus avós e tios que também me apoiaram.

A professora Marineide Amorim que lutou comigo durante a realização desse trabalho.

Em especial, a minha irmã Mayane Magalhães e Marden Magalhães, a Daniele Sousa, Vicente Costa, Sandra Mara, Layane Saraiva e a todos que me ajudaram, muito obrigado pela ajuda.

E a todos os professores do IFPI, principalmente a Esterfania Farias, Etielle Andrade e Ravena Leal que conquistaram um lugar no meu coração com sua belíssima forma de ensinar.

*Por vezes sentimos que aquilo que
fazemos é apenas uma gota no oceano.
Mas, o oceano seria menor se lhe faltasse uma
gota.
(Madre Teresa de Calcutá)*

RESUMO

Os seres humanos e as plantas possuem uma estreita relação com as bactérias. A interação benéfica entre plantas das famílias Fabaceae e Poaceae e bactérias diazotróficas vem sendo amplamente estudada, devido a capacidade que essas bactérias tem de promover melhor desenvolvimento vegetal através da mediação de várias reações químicas como a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção de hormônios vegetais. O presente trabalho teve como objetivo verificar se as bactérias diazotróficas são capazes de influenciar vegetais pertencentes a outras famílias desde a germinação até o desenvolvimento inicial. Plantas de tomateiro (Solanaceae), couve-manteiga (Brassicaceae) e pepineiro (Cucurbitaceae) foram plantadas em areia autoclavada e posteriormente inoculadas com seis tipos de bactérias oriundas de solos do Ceará, Maranhão e Piauí. De cada vegetal, obteve-se 180 amostras, das quais, 120 inoculadas e 60 não inoculadas.. As plântulas de pepineiro foram colhidas no 21º dia e as de couve e tomateiro no 42º dia. Verificou-se que as bactérias não promoveram maior porcentagem de emergência vegetal, contudo, as bactérias PI04, PI12 e CE32 obtiveram os melhores resultados tendo efeito sobre o aumento do comprimento da área foliar e da raiz e na obtenção de massa seca nas folhas e raízes. Desta forma as bactérias possuem potencial para serem utilizadas como inoculante biológico nas culturas em estudo.

Palavras-chave: Bactéria diazotrófica. Crescimento vegetal. Germinação.

ABSTRACT

Humans and plants have a close relationship with bacteria. The beneficial interaction between plants of the families Fabaceae and Poaceae and diazotrophic bacteria has been widely studied, due to the capacity that these bacteria have to promote better plant development through the mediation of several chemical reactions such as biological nitrogen fixation, phosphate solubilization and production of plant hormones. The present work aimed to verify if diazotrophic bacteria are able to influence plants belonging to other families from germination to development. Plants of tomato (Solanaceae), butter cabbage (Brassicaceae) and cucumber (Cucurbitaceae) were planted in autoclaved sand and then inoculated with six types of bacteria from soils of Ceará, Maranhão and Piauí. Each plant presented 180 samples, of which, 120 inoculated and 60 non-inoculated. Each bacterium was inoculated on 20 samples from each plant. Cucumber seedlings were harvested on day 21 and cabbage and tomato seedlings on day 42. It was found that the bacteria did not promote higher percentage of plant emergence, however, the bacteria PI04, PI12 and CE32 obtained the best results having effect on the increase of leaf and root area length and on the obtainment of dry mass in leaves and roots. Thus, these bacteria have the potential to be used as inoculants.

Key words: Diazotrophic bacteria. Plant growth. Germination.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição do vegetais na sementeira.....	19
Figura 2: Cultivo dos vegetais. Em cada bandeja, há uma bactéria e três tipos vegetais.	19
Figura 3: Lavagem, Medição e pesagem de plântulas.	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reatividade dos isolados em testes bioquímicos.	17
Tabela 2: Média de germinação da couve-manteiga, pepineiro e tomateiro ao final do 12º dia após o plantio.	21
Tabela 3: Médias do comprimento foliar e comprimento radicular do pepineiro em 6 bactérias e seus respectivos grupos controle.	23
Tabela 4: Médias do comprimento da foliar e comprimento da raiz em 6 bactérias e seus respectivos grupos controle na couve-manteiga.	24
Tabela 5: Médias do comprimento foliar e comprimento raiz em 6 bactérias e seus respectivos grupos controles no tomateiro.	25
Tabela 6: Relação entre o comprimento foliar x massa seca foliar e comprimento da raiz x massa seca da raiz.	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 GERMINAÇÃO DE SEMENTES	13
2.2 CLASSIFICAÇÕES DAS BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS	14
2.3 ATUAÇÃO DAS BACTÉRIAS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 ÁREA DE ESTUDO E PREPARO DA AREIA	16
3.2 CARACTERÍSTICAS DOS ISOLADOS	17
3.3 PREPARO DO INOCULANTE	18
3.4 CULTIVO DAS SEMENTES	18
3.5 DADOS BIOMÉTRICOS DAS PLÂNTULAS	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 PORCENTAGEM DE EMERGÊNCIA (PE)	21
4.2 PEPINEIRO	22
4.3 COUVE- MANTEIGA	24
4.4 TOMATEIRO	25
5 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, vemos crescimento nos estudos relacionado a microbiologia, seja ela humana ou ambiental. Com os resultados do projeto Microbioma humano, pode-se perceber a importância dos microrganismos no funcionamento do corpo. Nesse projeto foi observada a presença de vários trilhões de microrganismo sejam eles internos ou externos promovendo reações metabólicas no organismo em que habitam (COSTELLO et al., 2009).

Partindo do mesmo princípio, percebeu-se que as plantas também apresentavam várias interações benéficas com microrganismos presentes no solo, e que também são encontrados nas demais partes dos vegetais, sendo sua principal função, a disponibilização de compostos necessários ao desenvolvimento vegetal, como nitrogênio, fósforos e vários fitohormônios (BULGARELLI et al., 2013).

Os processos químicos podem ser intermediados por bactérias diazotróficas que estão distribuídas em vários grupos que vão desde bactérias gram-negativas e positivas, até arqueobactérias e cianobactérias (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Bactérias diazotróficas podem ser encontradas de forma associativa com as plantas, podendo ser simbiontes, formando nódulos nas raízes de leguminosas, de forma endofítica, onde ocorre a colonização dos tecidos vegetais ou podem localizar-se na rizosfera sem estar associada com plantas, sendo chamada de rizobactérias (OLIVEIRA, 2015).

Estudos envolvendo microrganismos diazotróficos estão sendo amplamente difundidos no meio científico, devido sua capacidade de fixar nitrogênio (SILVA et al., 2019). Moreira et al., (2010) ressalta várias substâncias que são secretadas pelo metabolismo desses seres e que promovem melhor desenvolvimento das plantas. Dentre as substâncias promotoras de crescimento vegetal pode-se citar, por exemplo, o ácido indol acético (AIA) e o processo de solubilização de fosfato (KERBAUY, 2013; MONTALDO, 2016; TAIZ et al., 2017).

A utilização de bactérias que secretam esses compostos representa um grande avanço para a agricultura, devido seu uso diminuir a utilização de fertilização nitrogenada (MOREIRA et al., 2010; CARVALHO et al., 2014). Pois o uso desordenado destes fertilizantes contribui para a eutrofização de lagos e rios, assim como, por meio da lixiviação do nitrato, contaminam-se os lençóis freáticos (COSTA et al., 2017; LOGANATHAN, 2013; RESENDE, 2002).

O uso de práticas agrícolas sustentáveis e de inoculantes bacterianos são uma boa alternativa para substituir os fertilizantes nitrogenados, visto que a eficiência desses organismos é comprovada na fixação de nitrogênio e secreção de substâncias benéficas aos vegetais, tornando uma alternativa viável e de baixo custo comparado com fertilizantes nitrogenados, além do baixo impacto ambiental. Existem estudos sobre a utilização de bactérias diazotróficas, mas estão direcionados aos vegetais da família Poaceae como o milho, trigo, arroz, cana-de-açúcar, entre outras gramíneas e em leguminosas como o feijão e soja devido a sua capacidade noduladora (CARVALHO et al., 2014).

Diante disso, o objetivo do trabalho é avaliar o efeito da inoculação de seis tipos de bactérias diazotróficas pertencentes ao gênero *Rhizobium* em sementes de espécimes vegetais de diferentes famílias, tais como Solanaceae, Brassicaceae e Cucurbitaceae.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 GERMINAÇÃO DE SEMENTES

Germinação é processo pelo qual o embrião retoma o seu crescimento. Vários fatores têm efeito direto nesse processo, dentre eles, podemos citar principalmente a luz, temperatura e potencial hídrico. Muitas sementes têm respostas diretas à luz devido à presença de fitocromos. Dependendo da exposição obtêm-se respostas diferentes na germinação, podendo ser acelerada ou diminuída. A temperatura influencia da mesma forma, por estar relacionada a quebra da dormência e a água é fator limitante à germinação, uma vez que o processo é desencadeado quando ocorre a reidratação dos cotilédones e do embrião (KERBAUY, 2013; TAIZ et al., 2017).

Geralmente as sementes têm uma faixa de temperatura ideal para a quebra de dormência, não ultrapassando os 40 °C, porém várias espécies necessitam de temperaturas elevadas e há casos de sementes que mesmo em longos períodos frios, em média de 5 °C conseguem quebrar a dormência e germinar. Em casos específicos, algumas sementes necessitam passar pelo processo de escarificação seja pelo atrito com o solo ou por intermédio de animais e microrganismos (EVERT; EICHHORN, 2014).

Outro fator que interfere na germinação são os reguladores químicos vegetais, as auxinas, giberelinas e citocininas têm efeito direto na germinação, pois estão associado a intensa divisão meristemática que ocorre no ápice e na base do embrião (SILVA et al., 2008). Além de serem produzidos por plantas, esses hormônios também podem ser sintetizados por bactérias (LOON, 2007; SAUER et al., 2013), devido a isso, essas bactérias são aliadas no processo de germinação e desenvolvimento desses vegetais..

2.2 CLASSIFICAÇÕES DAS BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

Organismos diazotróficos podem ser classificados quanto sua forma de colonizar as raízes das plantas. As bactérias de vida livre, também chamadas de rizobactérias, permanecem livres no solo consumindo compostos liberados pelas plantas e liberando substâncias benéficas a elas, as endófitas facultativas podem viver tanto no interior das raízes como na rizosfera. Existem ainda as que vivem obrigatoriamente no interior de tecidos vegetais e são chamadas de endófitas obrigatórias e os simbios, que mantém estreita relação com as plantas (leguminosas) formando nódulos em suas raízes (VIEIRA, 2017; OLIVEIRA, 2015).

As rizobactérias são organismos de vida livre encontradas no solo, são organismo heterotrófico que necessitam de fonte de carbono para sobreviver, sendo esse carbono geralmente provido pelas plantas (MARIN, 1999). Bactérias do gênero, *Beijerinckia* (RUSCHEL; BRITTO, 1966) e *Azotobacter* (DÖBEREINER, 1966) são alguns exemplos.

Organismos endofíticos são encontrados praticamente em quase todos os órgãos vegetais, infestam as plantas principalmente pelas raízes ou por pequenas fissuras no tecido, essa classe de microrganismos possui relações benéficas, quando produzem substâncias que auxiliam o vegetal em seu desenvolvimento ou no combate de patógenos, (AZEVEDO, 1998). As bactérias do gênero *Azospirillum*, *Azoarcus* e *Herbaspirillum* podem ser encontradas de forma endofítica (SANTI, 2013).

Já em relação às bactérias simbios, presentes neste trabalho, estão relacionadas diretamente ao gênero *Rhizobium*, essas bactérias assim como outras diazotróficas, possuem enzimas específicas que convertem o nitrogênio atmosférico em compostos assimiláveis pelas plantas. Em plantas leguminosas, observa-se o

desenvolvimento de nódulos, apesar de haver plantas pertencentes a esse grupo em que não ocorre nodulação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

2.3 ATUAÇÃO DAS BACTERIAS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL

Dentro do grupo das bactérias diazotróficas existem as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) que são comumente encontradas na superfície solo, podendo manifestar ação direta nos tecidos vegetais, como é o caso de sua atuação no controle dos níveis de etileno nos tecidos meristemáticos da raiz. Elas podem apresentar ação mutualista indireta, aproveitando-se dos compostos liberados pelas plantas para seu desenvolvimento e liberando produtos de interesse do vegetal, como nitrogênio, fósforo, entre outros (CARDOSO e ESTRADA-BONILLA, 2019; GLICK, 2005).

O nitrogênio é um dos elementos essenciais ao desenvolvimento das plantas, atuando na composição das proteínas e dos ácidos nucleicos. Sua ausência é fator limitante ao crescimento vegetal (KERBAUY, 2013). Grande parte do nitrogênio está na atmosfera (aproximadamente 78%) na forma de N_2 . Porém, plantas e animais não possuem os mecanismos necessários para fazer com que o N_2 atmosférico seja transformado em compostos assimiláveis por suas células e assim entrar na cadeia alimentar. O nitrogênio disponibilizado aos seres eucariontes é proveniente da fixação biológica de nitrogênio (FBN) que é realizada por organismos procariotos conhecidos como diazotróficos. Nesse processo o N_2 é convertido NH_4 por intermédio da enzima nitrogenase podendo assim ser absorvido pelas plantas (MARIN et al., 1999; ALCANTARA et al., 2017; VIEIRA, 2017; CARDOSO, ESTRADA-BONILLA, 2019).

Algumas bactérias conseguem solubilizar fosfato. O fósforo é um elemento que pode ser encontrado em sua forma orgânica no solo quando provém da liberação de plantas e animais ou inorgânica devido ao uso de fertilizantes a base de fosfato, estando disponível para a absorção das plantas. Porém, dependendo do pH do solo essa forma de assimilação é rapidamente bloqueada por íons de ferro (Fe), alumínio (Al) ou cálcio (Ca), devido a isso, as transformações químicas promovidas por esses organismos tornam-se necessárias para que esses íons bloqueados sejam novamente transformados em fosfato, disponibilizando-o novamente para as plantas (MOREIRA et al., 2010).

Song et al., (2008), demonstrou em seu estudo com a bactéria *Burkholderia cepacia* que a solubilização de fosfato está relacionada com a produção de ácido glucônico, ou seja, o processo de solubilização é desencadeado à medida que ocorre a diminuição do pH proveniente da liberação do ácido glucônico.

Outra característica marcante dessas bactérias é a capacidade de produzir os principais reguladores químicos em plantas, como por exemplo, giberelinas, citocininas e auxinas. Esta última, na forma de ácido indol acético, destaca-se como um dos principais reguladores envolvidos no crescimento vegetal (LOON, 2007; SAUER et al., 2013).

Sabino et al., (2012) e Coati et al., (2015) ao avaliarem respectivamente a produção do AIA em cultivares de arroz e feijão caupi, observaram uma elevada produção desse hormônio por bactérias do tipo *Azospirillum brasiliense* e *Rhizobium ssp.* Porém, apesar de ser benéfico ao desenvolvimento das plantas, o ácido indol acético em determinadas quantidades pode ser inibidor do desenvolvimento (GLICK, 2012).

Também é conhecida a interação dessas bactérias com o etileno. O etileno é um hormônio vegetal que atua diretamente no crescimento vegetal desde a germinação até a senescência dos frutos. Doses muito altas em plantas recém-geminadas, impedem o crescimento das raízes. As bactérias assim como as plantas possuem a enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase (ACC desaminase) que atua diretamente baixando os níveis de etileno e promovendo o crescimento radicular (GLICK, 2005).

3 MATERIAIS E METODOS.

3.1 ÁREA DE ESTUDO E PREPARO DA AREIA

O experimento ocorreu no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI) campus Pedro II, localizado nas coordenadas 4°26'54.2"S 41°27'27 1"W no período de novembro e dezembro de 2020.

O substrato utilizado foi areia lavada de construção coletada no Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus da Socopo, em Teresina, PI, nas coordenadas 05°05'21"S e 42°48'07" W e altitude 74 m. A areia foi lavada seis vezes em água, para retirar qualquer impureza orgânica e posteriormente autoclavada a 121° C com pH

corrigido para 6,5 com a adição de ácido clorídrico (HCl). A areia foi distribuída em seis sementeiras borrifadas com álcool 70%, compostas por 128 células cada.

3.2 CARACTERÍSTICAS DOS ISOLADOS

Em relação à diversidade e funcionalidade das bactérias diazotróficas, vários autores comprovaram melhor desenvolvimento de plantas quando inoculadas com estas bactérias, devido aos vários fatores proporcionados por essa interação, como a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção de reguladores químicos (BULGARELLI et al., 2013; KERBAUY, 2013; MONTALDO, 2016; TAIZ et al., 2017).

De acordo com a tabela 1, observa-se que todos isolados utilizados no experimento são capazes de produzir AIA (ácido-3-indol acético) e solubilizar fosfato, além de testarem positivas para outros testes (urease, protease, amilase, lipase, gelatinas, catalase e carboxil-metil-celulose). Dentre os isolados bacterianos podemos destacar PI04, MA28 e MA62 com 6 testes positivos, CE32 e PI12 com 5 testes e por último CE17 com apenas 3 testes positivos.

Tabela 1: Reatividade dos isolados em testes bioquímicos.

ISOLADOS	AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TESTES BIOQUÍMICOS							
		SF	U	P	A	L	G	C	CMC
CE17	62,38 $\pm$ 0,17	X	-	-	-	-	X	-	-
CE32	607,85 $\pm$ 9,68	X	-	-	-	X	X	X	-
PI04	88,03 $\pm$ 1,03	X	X	-	-	X	-	X	X
PI12	41,40 $\pm$ 0,46	X	-	-	-	X	X	X	-
MA28	7,56 $\pm$ 0,15	X	X	-	X	-	X	X	-
MA62	491,35 $\pm$ 0,84	X	-	-	X	-	X	X	X

Reatividade dos isolados em testes bioquímicos. AIA- ácido-3-indol acético, SF = teste de solubilização de fosfato, U = teste de urease ; A = teste de amilase ; P = teste de protease; L= teste de lipase; G = teste de gelatinase; C = teste de catalase e CMC = teste de carboxil-metil-celulose. Fonte: AMORIM (2019), p.57.

Um fator a ser levado em consideração é a produção de enzimas, algo que foi observado nas bactérias do estudo. Segundo Ferreira (2017), a atividade enzimática é extremamente necessária para o estabelecimento de colônias bacterianas em tecido vegetal, pois elas são dependentes de enzimas para degradar compostos

liberados pelas plantas.

Em estudos com isolados do gênero *Rhizobium*, Kumari (2010) relatou que atividade de enzimas como urease, protease, amilase, gelatinase produzidas por seus isolados, tem relação direta na infestação de tecidos e formação de nódulos em plantas. As bactérias diazotróficas ainda estão relacionadas ao desenvolvimento indireto devido a supressão de agentes patológicos, em estudos sobre a atividade antioxidante de plantas inoculadas com *Bradyrhizobium sp*, Batista et al., (2015), demonstrou que plantas inoculadas apresentaram sistema antioxidante mais eficientes devido a ação da catalase, dismutases e peroxidases.

Sendo assim, a positividade em testes bioquímicos para determinadas substâncias é característica fundamental na seleção de bactérias para a inoculação visando os benefícios propícios, sendo necessário que se escolha isolados vigorosos capazes de competir por nutrientes com a microbiota local (BALDANI et al., 1986).

3.3 PREPARO DO INOCULANTE

O inoculante foi preparado utilizando-se um litro do meio de crescimento YM (VICENT, 1970) que é composto por levedura (0,4 g), Manitol (5,0 g), Mg_2SO_4 (2 ml), KH_2PO_4 (1 ml), $KHPO_4$ (1 ml), NaCl (2 ml). A solução foi ajustada para pH 6,9 e distribuída em seis frascos Erlenmeyers de 200 mL. Após serem autoclavados, os frascos contendo o meio YM receberam a repicagem com os isolados oriundos do Ceará (CE32 e CE17), Maranhão (MA28 e MA62) e Piauí (PI04 e PI12). Após a repicagem, os isolados bacterianos foram colocadas em frasco para crescer em temperatura controlada de 28° C por 72 h em rotação a 220 rpm.

3.4 CULTIVO DAS SEMENTES

Foram utilizados no experimento três tipos vegetais de diferentes famílias: tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. var. Santa Clara I-5300 - Solanaceae), pepineiro (*Cucumis sativus* L. - Cucurbitaceae) e a couve-manteiga (*Brassica olerace* L. var. achephala - Brassicaceae), sendo as sementes compradas em casas especializadas em produtos para agricultura e pecuária. Em cada sementeira havia sementes de tomateiro, couve-manteiga e pepineiro que foram inoculadas com determinado isolado, mais um grupo controle de cada vegetal sem inoculante. Cada vegetal teve

20 amostras inoculadas em cada sementeira mais 10 amostras sem receber inoculação (Figura 1)

Figura 1: Distribuição dos vegetais na sementeira.



Fonte: Próprio autor (2021).

Em cada célula foram plantadas duas sementes, a rega foi feita diariamente à medida que o substrato se mostrava seco. Nos primeiros sete dias cada célula era regada com 5ml de água com a utilização de uma pipeta graduada, posteriormente foi utilizado um borrifador. À medida que as sementes germinassem, as plântulas eram regadas com 1 ml de solução nutritiva descrita por Hoagland e Arnon (1950) em dias alternados em todas as células inoculadas e grupos controles. Após cinco dias de germinadas, foi realizada a retirada da plântula menos desenvolvida em cada célula restando apenas uma. (figura 2).

Figura 2: Cultivo dos vegetais. Em cada bandeja, há uma bactéria e três tipos vegetais.



Fonte: Próprio autor (2021).

3.5 DADOS BIOMÉTRICOS DAS PLÂNTULAS

As plantas foram consideradas emergidas quando seus cotilédones estivessem completamente abertos e mostrando as folhas primárias, no final do 12º dia após o plantio, foram contadas quantas plantas em cada bandeja emergiram. Para a obtenção da porcentagem de plantas emergidas usou-se as seguintes fórmulas:

Em plantas inoculadas, $P = n/20 \times 100$

Em plantas do grupo controle, $P = n/10 \times 100$

Onde: P= porcentagem final (%)

n= número total de plantas emergidas.

O pepineiro foi colhido no 21º dia e o tomateiro e a couve no 42º dia. Verificaram-se as medidas da raiz e da parte aérea por meio de régua graduada (Figura 3). As plantas foram colocadas em sacos de papel, que foram etiquetados, e levada a estufa à 65 °C até sua completa desidratação. Em seguida a raiz e a parte aérea de cada planta foram pesadas em balança de precisão 0,001 g para se verificar a massa seca.

Foi realizado o ANAVA para verificar a variância, seguida do teste Schott Knott a 5% de probabilidade, para verificar se as médias diferiam entre si pelo software Sisvar (FERREIRA, 2019).

Figura 3: Lavagem, Medição e pesagem de plântulas.



Fonte: Próprio autor (2021).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, observa-se que as bactérias diazotróficas podem exercer diferentes efeitos no desenvolvimento vegetal, podendo ser benéfico, como no aumento do comprimento foliar e da raiz, negativo, suprimindo o seu desenvolvimento ou nulo, no caso da porcentagem de plantas emergidas, onde não houve alteração significativa.

4.1 PORCENTAGEM DE EMERGÊNCIA (PE)

De acordo com médias obtidas na emergência de todos os vegetais inoculados pelos isolados bacterianos e seus respectivos grupos controles (tabela 2), observa-se que nenhum isolado foi capaz de aumentar a quantidade de plantas emergidas ao final do 12º dia após o plantio. Apesar de possuírem porcentagens de germinações maiores entre tratamentos inoculados e grupo controle, nenhum diferiu significativamente entre si. Levando em consideração que todas as bactérias são produtoras de AIA, e que, apesar de produzirem em diferentes quantidades, não houve interferência hormonal na porcentagem de plântulas emergidas. Sendo assim, essas bactérias não possuem a capacidade de melhorar o processo de emergências no pepineiro, tomateiro e couve-manteiga.

Tabela 2: Média de germinação da couve-manteiga, pepineiro e tomateiro ao final do 12º dia após o plantio.

TRATAMENTO	PORCENTAGEM DE EMERGÊNCIA (%)
MA62	100 a*
Grupo controle 1	86,7 a
MA28	95,0 a
Grupo controle 2	86,7 a
CE32	100 a
Grupo controle 3	100 a
CE17	95,0 a
Grupo controle 4	90,0 a
PI04	86,7 a

Grupo controle 5	86,7 a
PI 12	88,3 a
Grupo controle 6	97,0 a
CV (%)	8,8

*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste Schott Knott ($\alpha=0,005$). Fonte: Próprio autor (2021).

Borges (2016), em estudos sobre a germinação de plantas olerícolas, demonstrou que determinadas espécies reagem de maneira diferente à inoculação de rizóbios. Sementes de cenoura e rabanete não tiveram a germinação influenciada pela produção de AIA das bactérias, já as de alface e rúcula obtiveram diferenças significativas, sendo que na alface em dose elevadas também prejudicaram a germinação.

Trabalhando com a inoculação *Bacillus amyloliquefaciens* no tomateiro, Szilagyi-zecchin (2015) demonstrou que a inoculação não influenciou na porcentagem final de plântulas germinadas, por outro lado, a produção de (AIA) e sideróforos, teve relação direta no desenvolvimento da parte aérea. Kozusny-Andreani e Junior (2014), testando a promoção de crescimento utilizando estirpes de bactéria do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, perceberam que as estirpes *Rhizobium* sp.(UCCB 001) e *Rhizobium tropici* (SEMIA 4077) obtiveram os melhores resultados em relação a promoção do crescimento sendo o *Rhizobium tropici* (SEMIA 4077), o que teve melhor desempenho, provavelmente pela ação do AIA, pois houve incremento significativo no comprimento radicular.

4.2 PEPINEIRO

Verificando a tabela 3, percebe-se que houve diferença significativa entre os tratamentos que foram inoculados com bactérias diazotróficas e os que não receberam inoculação. Em relação ao comprimento da área foliar, as plantas inoculadas com o isolado MA62 obtiveram a maior média entre os tratamentos (7,1 cm), seguida do isolado CE32 (6,8 cm), bactéria MA28 (6,6 cm) e isolado PI12 (6,4 cm). Contudo, nos dados referentes ao comprimento de raiz, nota-se que não houve diferença significativa no isolado MA62, comparando apenas a relação entre o grupo inoculado e o grupo controle que diferiu entre si, o isolado CE32 obteve a maior média (8,7 cm) seguida do isolado PI12(7,2cm) e isolado PI04 (7,1 cm).

O isolado CE32 proporcionou maior média de massa seca foliar, diferindo estatisticamente de todas as outras, em relação à massa seca radicular, percebe-se que o isolado CE17 e o isolado PI04 promoveram a formação de maior massa seca radicular que as demais bactérias, ambas com 0,027 g.

Tabela 3: Médias do comprimento foliar e comprimento radicular do pepineiro em 6 bactérias e seus respectivos grupos controle.

PEPINEIRO				
Tratamentos	C.F (cm)	C.R (cm)	M.S.F (g)	M.S.R(g)
MA62	7,1 b	5,8 a	0,036 a	0,013 a
G.C 1	5,5 a	5,9 a	0,038 a	0,032 b
MA28	6,6 b	6,0 a	0,038 a	0,013 a
G.C 2	6,0 a	7,2 b	0,043 a	0,011 a
CE32	6,8 b	8,7 b	0,186 b	0,020 a
G.C 3	6,1 a	6,4 a	0,043 a	0,016 a
CE17	6,8 b	7,4 b	0,039 a	0,027 b
G.C 4	5,6 a	7,5 b	0,040 a	0,017 a
PI04	6,6 b	7,1 b	0,044 a	0,027 b
G.C 5	5,5 a	6,5 a	0,042 a	0,013 a
PI12	6,4 b	7,2 b	0,034 a	0,020 a
G.C 6	5,2 a	5,8 a	0,038 a	0,018 a
CV (%)	13,8	21,9	61,6	52,4

Médias do comprimento foliar e comprimento radicular do pepineiro em 6 bactérias e seus respectivos grupos controle. C.F (Comprimento foliar), C.R (Comprimento da raiz), M.S.F(Massa seca foliar), M.S.R (Massa seca da raiz) e G.C (Grupo controle).

*Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Schott Knott ($\alpha=0,005$). Fonte: Próprio autor (2021).

Em pepineiros Lucon e Correia (2003) observaram valores distintos em relação às estirpes. Uma delas promoveu o aumento de 49% do valor da matéria seca das plântulas de pepineiro, enquanto a outra promoveu uma grande redução de cerca de 65%. A matéria seca da raiz de pepineiro inoculado com bactérias diazotróficas, apresentou grande aumento de massa se comparadas com o grupo controle, nas plântulas inoculadas com os isolados CE17 e PI04, observou-se um aumento de 37% e 51% de matéria seca respectivamente.

4.3 COUVE- MANTEIGA

Na couve-manteiga houve diferença significativa no comprimento foliar entre o tratamento inoculado e seu grupo controle no isolado PI04 (6,0 cm) e isolado PI12 (5,7 cm). No isolado MA62 e isolado CE17, as médias ficaram abaixo do grupo controle, bactéria MA28 e CE32 não diferiram significativamente. Apesar de não diferirem em comprimento foliar, ambas diferenciaram-se de seus grupos controles no comprimento radicular, juntamente com o isolado PI04 e o isolado PI12, sendo que nesta última obteve-se a maior média, como mostra a tabela 4.

Apenas o isolado CE32 e isolado PI12 influenciaram no ganho de massa seca da área foliar na couve, bactérias MA62, MA28, PI04 e CE17 não diferiram entre si, tendo essa última, diferenciado do seu grupo controle apresentando média menor. Em relação à massa seca da raiz, apenas o isolado PI04 diferiu do seu grupo controle, mas possui média que não difere das demais bactérias.

Tabela 4:Médias do comprimento da foliar e comprimento da raiz em 6 bactérias e seus respectivos grupos controle na couve-manteiga.

COUVE				
Tratamentos	C.F (cm)	C.R (cm)	M.S.F (g)	M.S.R(g)
MA62	5,4 b	5,6 b	0,035 a	0,007 a*
G.C 1	5,6 c	4,4 b	0,030 a	0,004 a
MA28	6,5 c	5,5 c	0,035 a	0,005 a
G.C 2	5,8 c	4,4 b	0,026 a	0,004 a
CE32	5,9 c	5,6 c	0,051 b	0,006 a
G.C 3	5,8 c	4,7 b	0,029 a	0,005 a
CE17	5,4 b	5,8 c	0,034 a	0,005 a
G.C 4	6,1 c	6,0 d	0,052 b	0,007 a
PI04	6,0 c	5,4 c	0,057 b	0,009 a
G.C 5	5,1 b	4,8 b	0,044 b	0,012 b
PI12	5,7 c	6,3 d	0,055 b	0,007 a
G.C 6	4,9 a	3,5 a	0,026 a	0,006 a
CV (%)	13,9	14,4	34,6	61,8

Médias do comprimento da foliar e comprimento da raiz em 6 bactérias e seus respectivos grupos controle na couve-manteiga. C.F (Comprimento foliar), C.R (Comprimento da raiz), M.S.F(Massa seca foliar), M.S.R (Massa seca da raiz) e G.C (Grupo controle)

*Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Schott Knott ($\alpha=0,005$). Fonte: Próprio autor (2021).

4.4 TOMATEIRO

No tomateiro, as bactérias MA62, MA28, PI04 e PI12 diferiram significativamente sendo maiores que seus grupos controle em relação ao comprimento foliar. Nas bactérias CE32 e CE17 não houve tais diferenciações, porém, apresentaram médias que as diferenciaram das demais bactérias. No comprimento radicular, apenas nas bactérias CE32, CE17, PI04 e isolado PI12 houve diferença significativa, com destaque o isolado CE17 que teve influência direta no tamanho da raiz, obtendo a maior média (6,3 cm) como pode ser observada na tabela 5.

No caso da massa seca da área foliar do tomateiro, nota-se diferença significativa apenas no isolado MA28 (0,018 g) e PI12 (0,026 g) em relação aos seus grupos controle, as demais não diferem entre si. Na massa seca da raiz observamos que nas plantas inoculadas com o isolado MA28 obtiveram menor massa que seu grupo controle, por outro lado, vemos uma diferença significativa positiva nas MA28 (0,003g), bactéria CE32 e isolado CE17 que apresentaram umas das maiores médias (0,005 g) e isolado PI04 com maior média (0,006g)

Tabela 5: Médias do comprimento foliar e comprimento raiz em 6 bactérias e seus respectivos grupos controles no tomateiro.

TOMATEIRO				
Tratamentos	C.F (cm)	C.R (cm)	M.S.F (g)	M.S.R(g)
MA62	9,4 d	4,9 c	0,013 a*	0,003 b
G.C 1	8,5 c	5,0 c	0,009 a	0,002 a
MA28	8,0 b	5,2 c	0,018 b	0,004 c
G.C 2	7,0 a	4,7 c	0,012 a	0,005 d
CE32	8,6 c	5,5 c	0,012 a	0,005 d
G.C 3	8,4 c	4,4 b	0,011 a	0,004 c
CE17	7,7 b	6,3 e	0,010 a	0,005 d
G.C 4	9,3 d	5,0 c	0,012 a	0,003 b
PI04	9,0 d	5,5 d	0,014 a	0,006 e
G.C 5	8,6 c	4,0 b	0,012 a	0,003 b
PI12	8,1 b	5,6 d	0,026 c	0,002 a

G.C 6	6,8 a	2,9 a	0,008 a	0,002 a
CV (%)	21,9	10,3	37,9	28,3

Médias do comprimento da área foliar e comprimento raiz em 6 bactérias e seus respectivos grupos controles no tomateiro. C.F (Comprimento foliar), C.R (Comprimento da raiz), M.S.F(Massa seca foliar), M.S.R (Massa seca da raiz) e G.C (Grupo controle)

* Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Schott Knott ($\alpha=0,005$). Fonte: Próprio autor (2021).

Em inoculação de rizobactérias promotoras de crescimento em tomateiros, Lima (2018), verificou que a bactéria *A. brasiliense* influenciou positivamente o desenvolvimento dos tomateiros, visto que houve aumento da parte aérea, diâmetro do caule, tamanho e volume das raízes. Esse desenvolvimento positivo foi percebido nas plântulas de tomateiro inoculadas pelas bactérias diazotróficas, onde houve aumento no comprimento foliar, comprimento da raiz e massa seca da raiz.

Avaliando a relação entre o comprimento foliar x massa seca foliar e comprimento da raiz x massa seca da raiz, percebe-se que apesar de as bactérias terem proporcionando maior crescimento da área foliar e da raiz, necessariamente não representa maior ganho de massa seca. Na tabela 5, temos o balanço em relação a essa interação.

Tabela 6: Relação entre o comprimento foliar x massa seca foliar e comprimento da raiz x massa seca da raiz.

	PEPINEIRO		COUVE-MANTEIGA		TOMATEIRO	
	C.F x M.S.F	C.R x M.S.R	C.F x M.S.F	C.R x M.S.R	C.F x M.S.F	C.R x M.S.R
MA62	-	-	-	-	-	X
MA28	-	-	-	-	X	-
CE32	X	-	X	-	-	X
CE17	-	X	-	-	-	X
PI04	-	X	-	-	-	X
PI12	-	-	X	-	X	-

Tabela 5: Relação entre o comprimento foliar x massa seca foliar e comprimento da raiz x massa seca da raiz. Bactéria marcadas com X, houve relação positiva. C.F(comprimento foliar); M.S.F (massa seca foliar); M.S.F(Massa seca foliar), M.S.R (Massa seca da raiz).

No isolado MA62 e MA28, apenas a cultura do tomateiro obteve benefício. Em relação às variáveis estudadas, houve aumento da massa das folhas e raiz relacionadas ao maior comprimento em ambas, nos demais vegetais não foi possível observar relação positiva possivelmente pela discrepância entre valores de AIA, sendo a MA62 a segunda maior produtora e a MA28 a menor produtora. Resultado semelhante ao encontrado por Schlindwein (2008) em estudos com inoculação de rizóbios em alface, que notou efeito negativo no desenvolvimento devido a grande quantidade de ácido indol acético (AIA) secretado por essas bactérias.

O isolado CE32 destacou-se melhorando a obtenção de massa seca nas folhas de pepineiro, couve-manteiga e na raiz do tomateiro. As bactérias CE17 melhorou o desempenho na raiz do pepineiro e raiz do tomateiro possivelmente pela ação do AIA, visto que obteve resultados negativos nos demais testes bioquímico. O isolado PI04 obteve os mesmos resultados que a CE17, nesse caso, além da produção de AIA ser maior obteve resultado positivo em outros 4 testes. o isolado PI012 forneceu maior massa foliar a couve-manteiga e tomateiro devido a características similares ao isolado PI04.

5 CONCLUSÃO

As inoculações de bactérias diazotróficas não influenciaram na porcentagem de plantas emergidas, mas estão relacionadas ao aumento do comprimento foliar e radicular e no acúmulo de massa seca foliar e radicular.

Levando em consideração os testes bioquímicos (quantidade de testes positivos) e a avaliação estatística da parte dos vegetais, podemos inferir que de forma geral, as bactérias CE32, PI04 e P12 possuem características desejáveis para serem utilizados como inoculantes.

O tomateiro foi o que sofreu mais influência pela inoculação das bactérias em relação aos demais vegetais avaliados demonstrando que os microrganismos exercem grande importância no crescimento desse vegetal.

REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, , R. M. C. M. et al. Fixação biológica de nitrogênio. *In*: CARDOSO, M. J. et al. Feijão-caupi : **O produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa, cap. 8, p. 95-105, 2017.
- AMORIM, M.R. Caracterização de isolados rizobianos moduladores de feijão-fava em solos dos Estados do Ceará, Maranhão e Piauí. Dissertação de mestrado (Pós-graduação em Genética e Melhoramento). **Universidade Federal do Piauí**, Teresina, 61f, 2019.
- AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. **Ecologia microbiana**, p. 117-137, 1998.
- BALDANI, V. L. D, et al. Establishment of inoculated *Azospirillum* spp. in the rhizosphere and roots of field grown wheat and sorghum. **Plant and Soil**, v.90, p. 35-46, 1986.
- BATISTA, R. D et al. **Respostas antioxidativas em nódulos de caupi inoculado com *Bradyrhizobium* sp.** 2015.
- BORGES, C. S. Rizóbios como promotores de crescimento de plantas olerícolas. 2016. 81 f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2016.
- BULGARELLI, D. et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 807-838, 2013.
- CARDOSO, E. B. N; ESTRADA-BONILLA, G. A. Inoculantes agrícolas. **Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**, v. 3, p. 305, 2019.
- CARVALHO, T. L. G. et al. Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 19, p. 5631-5642, 2014.
- COATTI, G. C. et al. Produção de AIA e diversidade fenotípica de estirpes elite de Rizóbio isoladas de feijoeiro. **Journal of Health Sciences**, v. 12, n. 1, p. 49-53, 2015.
- CORREA, E. B.; BETTIOL, W. Controle da podridão de raiz e promoção de crescimento em hidroponia com bactérias. *In*: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B (ed.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. 1. ed. Jaguariuna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2009, cap. 14, p. 225-238.
- COSTA, D. D. et al. Contaminação de mananciais de abastecimento pelo nitrato: o panorama do problema no Brasil, suas consequências e as soluções potenciais. **REDE-Revista Eletrônica do PRODEMA**, v. 10, n. 2, p.46-61, 2017.
- COSTA, R. F et al. Associação de inoculantes com bactérias diazotróficas no

desenvolvimento e produtividade de soja fertilizadas com fertilizantes orgânicos de dejetos de suíno. In: **Anais do 9º seminário de iniciação científica**. 2018.

COSTELLO, E. K. et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. **Science**, v. 326, n. 5960, p. 1694-1697, 2009.

DÖBEREINER, J. *Azotobacter paspali* sp.n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. p. 357-365, 1966

EVERT, F.R; EICHHORN, S.E. *Biologia vegetal*, 8ª. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2014

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

FERREIRA, E. P. B, et al. População e atividade microbiana do solo em sistema agroecológico de produção. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 22-31, 2017.

FLORENTINO, L. A et al. Inoculação de bactérias produtoras de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, v. 11, n.1, p. 89-96, 2017.

GLICK, B. R. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS microbiology letters*, v. 251, n. 1, p. 1-7, 2005. In: LIMA, U. A. (org.). *Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e bioenzimáticos*. 2. ed. São Paulo-SP: **Blucher**, 2019, v. 3, cap. 9, p. 305-327.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v. 2012, 2012.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soils. **Berkeley: California Agricultural Experimental Station**, 347p., 1950

KERBAUY, G. B. *Fisiologia vegetal*, 2. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2013.

KOZUSNY-ANDREANI, D. I; JUNIOR, R. A. Colonização rizosférica e promoção do crescimento por rizóbios em mudas de alface. **Nucleus**, v. 11, n. 2, p. 443-452, 2014.

KUMARI, B. S.; RAM, M. R.; MALLAIAH, K. V. Studies on nodulation, biochemical analysis and protein profiles of *Rhizobium* isolated from *Indigofera* species. **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 6, n. 2, p. 133-139, 2010

LIMA, N. S. A. Inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do tomateiro. 2018. 26 f. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Agronomia) - **Universidade Federal da Fronteira Sul**. 2018.

LOGANATHAN, P. et al. Enhanced removal of nitrate from water using surface modification of adsorbents—a review. **Journal of environmental management**, v. 131, p. 363-374, 2013.

LOON, L. C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. In: BAKKER, P.A.H.M.; RAAIJMAKERS, J.M.; BLOEMBERG, G.; HÖFTE, M.; LEMANCEAU, P.; COOKE, B.M (ed.). New perspectives and approaches in plant growth-promoting Rhizobacteria research. 1. ed. Dordrechtmm, **Springer**, 2007, cap. 1, p. 243-254.

LUCON, C. M. M.; CORREIA, C. C. Efeito de rizobactérias no controle de rhizoctonia solani e na promoção do crescimento de plantas de pepineiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 3, p. 100-103, 2003.

MARIN, V.A. et al. Fixação biológica de nitrogênio: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical. **EMBRAPA-CNPAB**. 24 p,1999.

MONTALDO, Y. C. Bioprospecção e isolamento de bactérias associadas à cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) com características para a promoção de crescimento vegetal. 2016. 101 f. Tese (Doutorado em Rede Nordeste de Biotecnologia) - Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Rede Nordeste de Biotecnologia, **Universidade Federal de Alagoas**, Maceió, 2016.

MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2 p. 74-99, 2010.

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

OLIVEIRA, D.J.D. Análise metabolômica e de metabólitos orgânicos voláteis em plantas de cana-de-açúcar em associação com microrganismos diazotróficos. 2015. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, **Universidade Federal de Alagoas**, Maceió, 2015

RESENDE, A. V. Agricultura e qualidade da água: contaminação da água por nitrato. 1. ed. Planaltina, **Embrapa Cerrados-Documentos**, 26 p, 2002.

SABINO, D. C. C. et al. Bactérias diazotróficas como promotoras do desenvolvimento inicial de plântulas de arroz. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 2337-2345 2012.

RUSCHEL, A. P; BRITTO, D. P. P. S. Fixação assimbiótica de nitrogênio atmosférico em algumas gramíneas e na tiririca pelas bactérias do gênero *Beijerinckia* Derx. **Pesquisa agropecuária brasileira**. p.65-69. 1966.

SANTI, C et al. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Annals of botany**, v. 111, n. 5, p. 743-767, 2013.

SAUER, M. et al. Auxin: simply complicated. **Journal of experimental botany**, v. 64, n. 9, p. 2565-2577, 2013.

SILVA, T. T. A et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 840-844, 2008.

SILVA, K. P. et al. Growth promotion of Guinea grass by diazotrophic bacteria1. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 49, 2019.

SINGH, I. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions: a review. **European Journal of Biological Research**, v. 8, n. 4, p. 191-213, 2018.

SONG, O. et al. Solubilization of insoluble inorganic phosphate by Burkholderia cepacia DA23 isolated from cultivated soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 1, p. 151-156, 2008.

SPOLAOR, L. T. et al. Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 33-40, 2016.

SZILAGYI-ZECCHIN, Vivian J. et al. Crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) estimulado pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 em cultura orgânica. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 26-33, 2015.

TAIZ, L. et al. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6. ed. **Artmed Editora**, 2017.

VIEIRA, R. F. Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas. Brasília: **Embrapa**, v. 13, 2017.