



UFAM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

KLEBERSON DE OLIVEIRA

**Bioprospecção de bactérias visando ativos biológicos para
biofertilizantes**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Manaus - AM
2023**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

KLEBERSON DE OLIVEIRA

**Bioprospecção de bactérias visando ativos biológicos para
biofertilizantes**

Defesa, apresentado ao Programa de Pós- Graduação em Biotecnologia (PPGbiotec) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Cecília Verônica Nunez

Coorientador: Prof. Dr Leonardo Silva Barbedo.

**Manaus - AM
2023**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

O48b Oliveira, Kleberon de
Bioprospecção de Bactérias visando ativos biológicos para
biofertilizantes / Kleberon de Oliveira . 2023
38 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Cecília Verônica Nunez
Coorientador: Leonardo Silva Barbedo
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal
do Amazonas.

1. Amazônia. 2. ativo biológico . 3. biofertilizante . 4. bioeconomia.
5. sustentabilidade. I. Nunez, Cecília Verônica. II. Universidade
Federal do Amazonas III. Título

A minha família que amo muito, pelo amor, pela admiração e por acreditarem na minha capacidade de vencer sempre.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me conduzir pelas veredas da vida protegida com seu amor incondicional, misericordioso e infinito, direcionando-me sempre no caminho do bem.

A minha orientadora, Prof. Dra. Cecília Verônica Nunez, pelo apoio, paciência e conhecimento compartilhado. Ao professor Dr. Leonardo Silva Barbedo e pelo Colaborador Dr. Raoni Gwinner pela ajuda imprescindível e decisiva para finalização deste trabalho.

Aos meus familiares amados, pelos momentos sempre bons e agradáveis, amor e constante apoio dispensado a mim.

A Universidade Federal do Amazonas – UFAM pelo suporte laboratorial e área física cedido para o desenvolvimento desta pesquisa.

A FAPEAM e a EMBRAPA pela parceria e incentivo ao desenvolvimento da pesquisa no interior do estado do Amazonas.

A Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, em especial a Coordenadora do curso, pela presteza direcionada aos alunos.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia: pelos momentos de descontração e ajuda prestada. A todos, meu muito obrigado!!!

O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário.

RESUMO

Sistemas simbióticos são compostos por diferentes organismos, o que favorece a diversidade microbiana. No sistema *Azteca-Cecropia* formiga e planta interagem de forma harmoniosa com suas diferentes biotas, o que faz deste sistema um alvo para prospecção de ativos biológicos que possam trazer benefícios a produção agrícola como bactérias solubilizadoras de fosfato. Solos ácidos com altos teores de óxidos de Fe e Al, apresentam grande capacidade de retenção de fosfato e constituem um forte dreno deste nutriente quando aplicado em sistemas agrícolas como fertilizante. O fósforo (P) é essencial ao desenvolvimento vegetal, contudo apenas uma pequena fração encontra-se em solução, estima-se menos de 0,1% do P total esteja na solução do solo, ou seja, mais de 95% do fósforo do solo encontra-se não disponível. Eventos como absorção, adsorção, fixação, lixiviação e retrogradação afetam diretamente a disponibilidade de fósforo na solução do solo. Algumas espécies de bactérias possuem mecanismos como produção de ácidos e fosfatases que permitem a solubilização de fosfato adsorvido no solo, tornando o P disponível na solução do solo, tais bactérias podem ter aplicação na agricultura como biofertilizantes auxiliando no incremento de P em sistemas agrícolas, e constituir uma importante ferramenta para agricultura sustentável. Portanto, buscamos a prospecção de ativos biológicos para a solubilização de fosfato com base em bactérias isoladas da interação Formiga-Planta. Plantas de embaúba foram identificadas em simbiose com formigas e abertas longitudinalmente, e do interior das domácias foi realizado o isolamento direto de microrganismos utilizando alça estéril descartável. As colônias que apresentaram halos em meio PVK foram isoladas e passaram por triagem e identificação molecular do gênero via 16S. Foram selecionadas 5 bactérias com altos índices de solubilização *in vitro*, e posteriormente identificadas como do gênero *Pantoea* e *Serratia*. A identificação molecular das formigas de embaubeira foi realizada pela análise da região CO1. Concluímos que o sistema simbiótico *Azteca-Cecropia* apresentou bactérias com níveis alto e médio de solubilização de fosfato constituindo em potencial, valiosos ativos biológicos para elaboração de biofertilizantes.

Palavras-chave: Amazônia; ativo biológico; biofertilizante; bioeconomia; sustentabilidade.

ABSTRACT

Symbiotic systems are composed of different organisms, which favors microbial diversity. In the *Azteca-Cecropia* system, ant and plant interact harmoniously with their different biotas, which makes this system a target for prospecting biological assets that can bring benefits to production agriculture as phosphate solubilizing bacteria. Acid soils with high levels of Fe and Al oxides have a high phosphate retention capacity and constitute a strong drain of this nutrient when applied in agricultural systems as fertilizer. Phosphorus (P) is essential for plant development, however only a small fraction is found in solution, it is estimated that less than 0.1% of the total P is in the soil solution, that is, more than 95% of soil phosphorus is not available. Events such as absorption, adsorption, fixation, leaching and retrogradation directly affect the availability of phosphorus in the soil solution. Some species of bacteria have mechanisms such as the production of acids and phosphatases that allows the solubilization of phosphate adsorbed in the soil, making P available in the soil solution, such bacteria can be used in agriculture as biofertilizers, helping to increase P in agricultural systems, and constitute an important tool for sustainable agriculture. Therefore, we sought to prospect biological assets for phosphate solubilization based on bacteria isolated from Ant-Plant interaction. Embaúba plants were identified in symbiosis with ants and opened longitudinally, and microorganisms were directly isolated from the interior of the domatia using a disposable sterile loop. The colonies that showed halos in PVK medium were isolated and underwent screening and molecular identification of the genus via 16S. Five bacteria with high *in vitro* solubilization rates were selected and later identified as belonging to the genus *Pantoea* and *Serratia*. Molecular identification of embaubeira ants was performed by analyzing the CO1 region. We conclude that the *Azteca-Cecropia* symbiotic system presented bacteria with high and medium levels of phosphate solubilization, potentially constituting valuable biological assets for the elaboration of biofertilizers.

Keywords: Amazon; biological asset; biofertilizer; bioeconomy; sustainability.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	Os generos <i>Cecropia</i> e <i>Azteca</i>	12
2.2	O Fósforo Inorgânico e sua Relevância para os Solos da Região Amazônica	13
2.3	Biofertilizantes: Uma Alternativa para a Agricultura Sustentável	15
2.4	Microrganismos Solubilizadores de Fosfato: Uma Alternativa para o Manejo Integrado da Fertilidade do solo	17
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivo Geral	20
3.2	Objetivos Específicos.....	20
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1	Coleta de Material.....	21
4.2	Identificação Molecular	21
4.3	Determinação do Índice de Solubilização de Fosfato.....	22
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Associações simbióticas decorrem da interação contínua entre espécies ao longo de seu processo evolutivo, tal relação pode atingir elevado nível de especialização devido à co-evolução (MARTING; KALLMAN; PRATT, 2018). O sistema biológico formiga-planta constitui uma fonte para exploração de novos compostos antimicrobianos, visto que a microbiota nestes sistemas está sob constante pressão de seleção de patógenos, herbívoros e parasitas. Associações que co-evoluíram apresentam benefícios para ambas espécies, conferindo vantagem adaptativa frente a adversidades bióticas e abióticas, e como consequência enorme potencial biotecnológico pode ser explorado de relações ecológicas que levaram milhões de anos para se estabelecer. Na relação mutualística entre plantas e formigas, a espécie vegetal confere abrigo e alimento para a colônia enquanto é beneficiada pela proteção contra herbívoros, patógenos e parasitas. Além disso, formigas podem carregar microrganismos simbiontes com atividade biológica crucial para estabilidade da colônia e da planta, atuando como mecanismo de defesa e manutenção da sanidade da colônia (OFFENBERG; DAMGAARD, 2019).

Dessa forma, a prospecção de microrganismos associados a sistemas formiga-planta é fundamentada no fato de que simbioses se estabeleceram ao longo da evolução, por conferir às espécies envolvida vantagem adaptativa, portanto, identificar ativos biológicos ainda não descritos pode abrir caminho para desenvolvimento de bioinsumos inovadores. Existe uma demanda mundial por produtos agrícolas mais sustentáveis, que substituam fertilizantes de maior impacto ambiental, portanto, a prospecção de ativos biológicos que contribuam para o desenvolvimento de bioinsumos contribui diretamente com a bioeconomia no estado do Amazonas. Este projeto visa realizar a prospecção de ativos biológicos do bioma Amazônia com atividade de solubilização de fosfato.

Microbiomas associados à plantas mirmecófitas e insetos, constituem uma valiosa fonte de recursos genéticos microbianos, sua análise e prospecção pode revelar aplicação agrícola, farmacológica e industrial. Em trabalho realizado no Panamá, a análise metagenômica de diferentes amostras da associação entre *Azteca alfari* e *Cecropia peltata*, utilizando as regiões 16S e ITS, foram identificados como filos mais frequentes Proteobacteria, Actinobacteria, Ascomycota e Basidiomycota (LUCAS *et al.*, 2019). Em trabalho realizado no Rio de Janeiro, Fukuda *et al.* (2021) descreveram o rico potencial microbiológico de sistemas *Cecropia-Azteca*.

Foi relatado que os gêneros de maior ocorrência nessa associação foram: *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Rhizobium*, *Methylobacterium* e *Streptomyces*, gêneros os quais foram extensivamente descritos quanto ao seu efeito benéfico a plantas e potencial biotecnológico (NASCIMENTO; G. HERNANDEZ; GLICK, 2020; TAYLOR; SIMMS; KOMATSU, 2020; DÍEZ-MÉNDEZ; MENÉNDEZ, 2021; KWAK *et al.*, 2014/11; ZHANG *et al.*, 2021; QUINN *et al.*, 2020; KUMAR *et al.*, 2021; HAMDAN; ABD-EL-MAGEED; GHANEM, 2021; ERDEMCI, 2020/5; ANDERSON; KIM, 2018; WALTERSON; SMITH; STAVRINIDES, 2014).

De forma geral, na associação simbiótica a promoção de crescimento vegetal é resultante de diferentes mecanismos, como: fixação de *N* atmosférico, supressão de pragas e doenças, indução de resistência em plantas, modulação dos níveis de hormônios vegetais e redução dos níveis de etileno. A diversidade de organismos que possuem efeito benéfico para produção vegetal ou relacionados a produção de moléculas com uso veterinário ou humano é notável, há um vasto potencial desconhecido e inexplorado sobre a aplicabilidade de produtos naturais desses organismos no setor agrícola, industrial, farmacêutico ou cosmético. O sequenciamento de genomas microbianos permite o estudo *in silico* de seu arsenal metabólico e a busca por genes relacionados a um determinado processo biológico, esta abordagem é denominada de mineração genômica, constitui uma atividade para identificação do potencial metabólico de um organismo, assim como sua aptidão para produzir uma molécula bioativa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Os generos *Cecropia* e *Azteca*

O gênero *Cecropia* é composto por cerca de 60 espécies, sendo 46 mirmecófitas, ou seja, apresentam interação simbiótica com formigas (BERG; ROSSELLI; DAVIDSON, 2005; MAYER *et al.*, 2018). As espécies de *Cecropia* estão amplamente distribuídas pela região amazônica, onde é possível encontrar cerca de 24 espécies, algumas são utilizadas para alimentação e como fitoterápico. Conhecida por inúmeros nomes: embaúba, imbaúba, umbauá e embaúva, seu nome popular tem origem na palavra “ambaíba” do Tupi que significa “tronco oco” (COSTA; SCHENKEL; REGINATTO, 2011). Também são utilizadas para reflorestamento, devido ao seu rápido crescimento e baixa exigência nutricional. São árvores pioneiras atingindo de 5 a 25 m. A maioria das espécies apresentam caule central ereto e vascularizado. Em plantas adultas (3-5 anos) é comum o desenvolvimento de novos ramos a partir do caule, resultando numa arquitetura de candelabro. Plantas de *Cecropia* comumente apresentam associação com formigas e outros insetos, o gênero de formigas *Azteca* é o mais frequente em interações simbióticas envolvendo espécies de *Cecropia* e formigas (BERG; ROSSELLI; DAVIDSON, 2005).

O gênero *Azteca* é constituído por cerca de 60 espécies de formigas, das quais 13 espécies obrigatoriamente fazem associação com espécies de *Cecropia* (BERG; ROSSELLI; DAVIDSON, 2005; FUKUDA *et al.*, 2021), é um gênero de formigas neotropicais arbóreas, que podem se abrigar em plantas vivas ou caules em decomposição, e estabelecem associação com plantas mirmecófitas de 16 gêneros distintos (OLIVEIRA; CORREA; DELABIE, 2015). Formigas do gênero *Azteca* possuem o hábito de cultivar fungos com objetivo alimentar, tornando o sistema simbiótico ainda mais geneticamente complexo. A biodiversidade presente nestes sistemas difere daquelas no ambiente ao redor, além disso, mesmo no interior de uma mesma planta de *Cecropia*, câmaras adjacentes podem apresentar diversidade microbiológica (LUCAS *et al.*, 2019). O sistema simbiótico *Azteca-Cecropia* confere ganhos de produção significativos para a planta hospedeira, conforme descrito por Oliveira, Correa e Delabie (2015). utilizando 25 simbiontes de *Cecropia glaziovii* em associação com *Azteca muelleri* e 23 sem associação verificou que plantas colonizadas cresceram 3,7 vezes mais que as não colonizadas. Além disso, plantas de *Cecropia glaziovii* não colonizadas sofreram maior taxa de herbivorismo.

A colonização de uma *Cecropia* ocorre do ápice para a base, o orifício de entrada é construído utilizando o Prostoma (estrutura vegetal especializada) para acessar as domácias que

são câmaras no interior do caule utilizadas como abrigo. Após entrada, operárias mastigam entradas individuais no caule, e nos espaços intermodais, favorecendo a livre passagem pelo interior da planta (MARTING; KALLMAN; PRATT, 2018). As domácias podem ser subdivididas, compartimentalizando componentes em seu interior como larvas e alimento, promovendo um melhor aproveitamento do espaço. Além das domácias e prostoma, outra estrutura vegetal especializada desse sistema é a triquilha, estrutura constituída por tricomas, localizada na junção do pecíolo foliar com o caule. A triquilha é um indumento onde ocorre a produção de corpos mullerianos, compostos ricos em glicogênio utilizados como fonte de alimento por insetos. Dessa forma, formigas em associação, obtém abrigo e comida, enquanto a planta se beneficia da proteção contra herbívoros e de efeitos benéficos ao seu crescimento (GIBERT; TOZER; WESTOBY, 2019).

Espécies mirmecófitas de *Cecropia* são mais frequentes em regiões de baixa altitude (<1400 m), em altitude, plantas de *Cecropia* são alvo menos frequente de herbívoros, tornando esse mecanismo de defesa menos relevante. Estima-se que a diversificação do gênero *Cecropia* ocorreu paralelamente com a evolução de formigas cortadeiras do gênero *Atta* (8 a 12 milhões de anos), que são importantes herbívoros de espécies de *Cecropia* (GUTIÉRREZ-VALENCIA; CHOMICKI; RENNER, 2017). Esse mecanismo de defesa é resultado da ação conjunta de insetos e microrganismos que compõem a associação.

2.2 O Fósforo Inorgânico e sua Relevância para os Solos da Região Amazônica

A multiplicidade dos aspectos geológicos da Região Amazônica, em conjunto com a elevada alternância geomorfológica, definem a existência de solos diversificados. Entre as variedades de tipos de solo encontrados, evidenciam-se os Latossolos e os Podzólicos Vermelho- Amarelo, em razão de sua predominância na região (REIS; FARIA; FRAXE, 2020).

Deve ser considerado, no processo de incorporação dos solos ao processo produtivo, suas características de fertilidade natural, posto que o percentual aproximado de 88% dos solos da região amazônica são classificados como solos de baixa fertilidade, sendo frequente áreas com baixos teores de fósforo (NASCIMENTO; HOMMA, 2004).

O fosfato inorgânico é utilizado pelas plantas para sintetizar compostos orgânicos essenciais para sua sobrevivência. Os vegetais incorporam esse elemento na condição de ortofosfato e os animais absorvem tal composto no decorrer de seu processo digestivo, ao se alimentarem dos vegetais que encontram na natureza. A dispersão do fosfato inorgânico no ambiente influencia diretamente o repositório deste nutriente no solo, de forma que um aumento

na aplicação de fósforo favorece uma maior adsorção de fosfato no solo, promovendo alterações na disponibilidade e conseqüentemente mudança no ciclo do fósforo. Parte deste elemento é movimentada para fora do sistema através da água que penetra a superfície ou, quando filtrada pelas camadas do solo, chega ao lençol freático e permanece em solução (RONQUIM, 2020).

Segundo NASCIMENTO e HOMMA (2004), no que diz respeito a aspectos de fertilidade, o solo pode ser possuir baixos níveis de nutrientes, onde o fósforo é tido como um dos elementos de maior demanda para o progresso ou desenvolvimento vegetal, significando ser um dos maiores responsáveis pelas limitações da produtividade da região. O fósforo possui grande poder de interferência sobre os aspectos metabólicos das plantas. Além de possuir elevado nível de correspondência com o solo, a disponibilidade de fósforo desempenha um papel fundamental na produção de raízes e conseqüentemente na área de absorção de nutrientes pelas plantas, além disso, o fosforo é um elemento essencial ao crescimento e desenvolvimento celular e está relacionado a diversos processos metabólicos como síntese de membranas celulares, moléculasde ATP, DNA e RNA.

Devido aos reduzidos teores de fósforo potencialmente absorvível pelas plantas em solução e em razão das carências de maiores proporções de P adsorvidas no solo, sistemas agrícolas exigem o emprego de fertilizantes fosfatados, além de outros fertilizantes, na expectativa de atender as demandas nutricionais das culturas, com objetivo de atingir maiores índices de produtividade, que tornem a atividade economicamente viável e competitiva com padrões de mercado. A disponibilidade de fósforo para as plantas é passível de mensuração por meio de extração química do referido elemento no solo, com o uso de técnicas desenvolvidas, especialmente, com esse objetivo (RONQUIM, 2020).

O íon ortofosfato é o estado mais comumente encontrado para o Fósforo no solo. Ele é proveniente do ácido ortofosfórico (H_3PO_4), dividido em dois grupos: orgânico e inorgânico. O fósforo é considerado um fator limitante para o desenvolvimento vegetal, pois é fundamental para o metabolismo e para assimilação das plantas (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Quando identificados no solo, os compostos fosfatados orgânicos estão sempre ligados, de forma direta, a alguma variedade de matéria orgânica e, a depender da estrutura química, podem ser classificados de cinco formas predominantes, caso dos fosfolipídios, fosfatos metabólicos, fosfoproteínas, ácidos nucleicos e inositol. Existe um considerável grau ou padrão de indefinição quanto a natureza química da maior parte desses fosfatos orgânicos (RITA, 2012).

Fosfatos inorgânicos estabelecem intenso e permanente relacionamento com os elementos sólidos do solo, permitindo que se identifiquem formas químicas bem definidas e

cristalizadas, além de outras com menor padrão de cristalização ou amorfas. Os fosfatos cristalinos são combinados, quase sempre, com metais de cálcio, alumínio e ferro (ARENHART, 2019).

Determinadas espécies de bactérias e fungos solubilizadores de fosfato se destacam por possuírem maior capacidade para solubilização de fosfatos, a partir de apatitas, fosforitas, fosfatos bi e tricálcicos. Inúmeros microrganismos do solo possuem a capacidade de solubilizar formas insolúveis de fosfato de cálcio, através da liberação de ácidos orgânicos, capazes, de forma direta, dissolver fosfato de rocha ou quebrar íons de cálcio, disponibilizando o fósforo na solução (SOUTO, 2020).

É possível identificar equilíbrio dinâmico entre o fósforo inorgânico, presente na solução do solo, absorvidos ou, sobretudo, em agrupamentos de cálcio, alumínio e ferro. O fósforo é absorvido pelas plantas, principalmente através da solução do solo, a concentração de fosfatos inorgânicos presentes nesta fase, frequentemente é muito baixa, a produção de ácidos orgânicos por plantas e microrganismos favorecem a solubilização de fosfato da fração reativa, aumentando a concentração deste elemento na solução do solo (LOPES, 1998).

2.3 Biofertilizantes: Uma Alternativa para a Agricultura Sustentável

Os fertilizantes disponibilizados para utilização na produção agrícola, podem ser divididos entre as classes de químicos, orgânicos e biológicos (ou biofertilizantes) cada um deles com suas características específicas sendo, todos, identificados em função das matérias-primas das quais derivam. Fertilizantes químicos são os mais amplamente utilizados devido a sua popularização, facilidade de acesso e transporte, alto teor de nutrientes dentre outras vantagens, contudo seu processo de produção e uso indiscriminado pode promover impactos ambientais negativos. Sua composição pode conter macro e/ou micronutrientes, sendo a combinação mais conhecida NPK (Nitrogênio, Fósforo e Potássio). Adubos orgânicos são aqueles de origem animal, vegetal, resíduos orgânicos ou resultado do processo de compostagem, que apesar de serem altamente eficientes para a melhoria das condições de fertilidade do solo, sua logística de aplicação em grande escala é dificultada pelos grandes volumes demandados quando comparado com fertilizantes químicos. Segundo site oficial do MAPA biofertilizante é o “produto que contém componentes ativos com substâncias orgânicas obtidas de microrganismos ou a partir da atividade destes, bem como seus derivados de origem vegetal e animal, capaz de atuar direta ou indiretamente sobre todo ou parte das plantas cultivadas, o aumento da sua produtividade ou na melhoria da sua

qualidade, incluídas os processos e tecnologias derivados desta definição”.(MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA, 2020).

Compostos de microrganismos vivos, como fungos e bactérias, os biofertilizantes são elementos fertilizadores utilizados com o intuito de aprimorar o padrão qualitativo e a vitalidade do solo, bem como das plantas, oferecendo nutrientes originários do próprio solo para as plantas (SILVA, 2021). Classificados como fertilizantes, de natureza orgânica, produzidos por meio da presença de microrganismos, responsáveis pela fermentação anaeróbica dos compostos orgânicos, os biofertilizantes, justamente por suas características básicas, quando aplicados na planta, colonizam seu interior (rizosfera) permitindo o desenvolvimento e a ampliação do fornecimento de nutrientes para a planta hospedeira, razão pela qual é razoável acreditar que o uso do biofertilizante é potencialmente capaz de favorecer o desenvolvimento sustentável de sistemas agrícolas (MACIK; GRYTA; F, 2020).

O emprego de biofertilizantes nos mais distintos sistemas de produção agrícola oferece inúmeros benefícios, com redução de impactos negativos ao meio ambiente. O controle de qualidade é de essencial importância para a produção dos biofertilizantes, a fim de que eles conquistem espaço permanente no mercado. Também é de fundamental notabilidade o estabelecimento de uma maior colaboração entre cientistas, indústria e políticas públicas que favoreçam o pleno funcionamento de sistemas de produção que utilizem em maior escala os biofertilizantes (SILVA, 2021). É de praxe a identificação de microrganismos na composição básica de biofertilizantes, agindo na ampliação da condição nutricional dos vegetais e levando, por consequência, a diminuição do uso de fertilizantes químicos. Seu uso possibilita a produção de substâncias húmicas, fundamentais para garantir a fertilidade do solo e do incremento da produtividade (GARRIDO *et al.*, 2019).

COSTA *et al.* (2021), também defendem a ideia de que o emprego de biofertilizantes em qualquer sistema de produção agrícola existentes seria potencialmente capaz de gerar grandes benefícios, com um mínimo de impacto ao meio ambiente, sendo de grande importância, o controle de qualidade para a produção dos biofertilizantes, dadas as exigências sanitárias para sua produção e inserção no mercado de bioinsumos. Os autores em referência também defendem a ideia de que é de suma importância que setores ligados à indústria do agronegócio estabeleçam vínculos mais intensos, a fim de garantir um adequado funcionamento dos sistemas de produção e utilização dos biofertilizantes.

O uso de biofertilizantes tem se popularizado no setor agrícola, o que pode ser constatado pela constante expansão deste segmento. O valor estimado do mercado global de biofertilizantes em 2016 era de 1,1 bilhões de dólares, com projeções de alcançar o valor estimado de 3,1 bilhões

de dólares em 2024 (JOSHIX; GAURAHA, 2022). Apesar do seu enorme potencial e demanda de mercado, a produção de bioformulados enfrenta desafios relativos à viabilidade desses produtos pós-armazenamento e a sobrevivência dos organismos vivos em condições ambientais distintas, o contínuo desenvolvimento, refinamento e validação destes produtos devem ser direcionados a macro ou microrregiões com características que favoreçam a ação dos ativos biológicos para que se obtenham maior constância no desempenho de bioformulados. Além disso, é necessário um esforço conjunto entre setor público e privado acompanhado de incentivo de agências reguladoras e setor legislativo para haver maior suporte ao desenvolvimento de biofertilizantes (MITTER et al., 2021).

Os biofertilizantes, comprovadamente, oferecem menor impacto para o meio ambiente, sobretudo por favorecerem a redução do uso de fertilizantes convencionais e pesticidas. Biofertilizantes são desenvolvidos a partir de ativos biológicos que ocorrem naturalmente no ambiente e sua elaboração quando comparada a produção de fertilizantes convencionais utiliza em menor escala, combustíveis fósseis e compostos químicos, rotineiramente empregados no processo produtivo dos fertilizantes convencionais (CENTURION, 2014).

Ainda é limitado o número de pesquisas que corroboram com a efetividade da aplicação de biofertilizante em plantas e sua capacidade de melhoria do solo, sendo necessário, mais estudos sobre sua constituição microbiológica e efetividade. Biofertilizantes quando elaborados de forma descriteriosa podem levar a proliferação de patógenos por meio de contaminações, capazes de provocar danos aos vegetais, e dessa forma promover o efeito inverso ao desejado pelo produtor. Ainda assim, e em razão da ampliação do uso e dos preços dos fertilizantes químicos, da diminuição da disponibilidade de combustíveis fósseis e da crescente preocupação com as questões ambientais, é possível pensar nos biofertilizantes como outra possibilidade de fornecimento de macro e micronutrientes demandados pelas plantas (SALES, 2017).

2.4 Microrganismos Solubilizadores de Fosfato: Uma Alternativa para o Manejo Integrado da Fertilidade do solo

É crescente o número de microrganismos solubilizadores de fosfato que vem sendo utilizados como biofertilizantes (OLIVEIRA-PAIVA *et al.*, 2018). Na perspectiva de diminuir o emprego de adubos fosfatados, países como Argentina, Canadá, África do Sul, Índia, Austrália, Filipinas e Estados Unidos, cada vez mais, empregam recursos na linha de biofertilizantes. No Brasil, o uso dessa tecnologia também é realidade, considerando-se que

em agosto de 2019 foi lançado no mercado brasileiro o primeiro inoculante, constituído de duas espécies do gênero *Bacillus* solubilizadoras de fosfato, integralmente desenvolvido a partir de tecnologia brasileira. Tal bioinsumo é fruto de uma parceria entre a empresa pública Embrapa e a empresa privada Bioma (PAIVA, 2019).

Para Pavinato *et al.* (2020), o fósforo deve ser adicionado em grande parte dos solos agrícolas por meio de fertilizantes químicos sintéticos. Por outro lado, supõem-se que uma grande quantidade do fósforo adicionado ao solo e não removido pelas culturas (>70%) continua no solo, em formas não disponíveis para as plantas. Dessa maneira, passa a ser fundamental a adoção de estratégias alternativas, sob o ponto de vista ambiental, sustentáveis e, ainda, economicamente viáveis para ampliar a disponibilidade deste nutriente para as plantas, como o uso de inoculantes microbianos ou biofertilizantes a base de bactérias solubilizadoras de fosfato.

O fósforo e seus compostos insolúveis, no solo, são potencialmente passíveis de solubilização por ácidos orgânicos, fosfatases e agentes quelantes elaborados por plantas e microrganismos. Bactérias solubilizadoras de fosfato (BSP) e espécies fúngicas têm capacidade de aumentar a solubilização de compostos fosfatados insolúveis. Com base na população microbiana do solo BSPs, quase sempre, compreendem entre 1% e 50%, enquanto os fungos solubilizadores de fosfato (FSP) iniciam entre 0,1% e 0,5% da população total, e os principais gêneros de bactérias encontradas com essa atividade são *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* e *Burkholderia*, assim como de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (KALAYU, 2019). Com relação a esses microrganismos solubilizadores, os elementos da literatura enfatizam, ainda mais, às bactérias do que aos fungos, visto que aquelas são potencialmente mais promissoras no processo de solubilização de fosfato (KOUR *et al.*, 2020). As bactérias solubilizadoras de potássio (BSK) cumprem uma função fundamental na solubilização de minerais potássicos. Mesmo considerando a existência de poucos dados foi possível identificar que há uma extensa revisão dos mecanismos de solubilização de K, usados por bactérias (SATTAR *et al.*, 2019). A produção de ácidos orgânicos fortes, como ácidos oxálico, tartárico e cítrico, e íons H⁺ é um mecanismo importante de solubilização de minerais potássicos, como mica, biotita, muscovita, feldspato, ilita e ortoclásio (KOUR *et al.*, 2020). Reconhecidos como envolvidos na solubilização de minerais potássicos, estão os ácidos orgânicos, como ácidos acético, glicólico, glicônico, láctico, propiônico, malônico e fumárico (ETESAMI; EMAMI; ALIKHANI, 2017).

A produção de sideróforos é um dos, eventuais, mecanismos, de solubilização de fosfatos, sobretudo o fosfato de ferro (estregita). Os sideróforos nada mais são que moléculas orgânicas de baixo peso molecular, concebida por determinados tipos de microrganismos destinados a,

prioritariamente, a complexar metais e, em especial, o ferro, quando em seu estado solúvel (BATISTA *et al.*, 2018). Os microrganismos se valem de mecanismos distintos para transformar formas pouco solúveis de fosfato em solúveis, como mecanismos de acidificação, quelação e reações de troca, ainda que o principal mecanismo de solubilização seja a liberação de metabólitos como ácidos orgânicos e enzimas extracelulares (ABREU *et al.*, 2017).

O emprego de inoculantes microbianos tende a ser compreendido como uma tecnologia capaz de promover melhorias nas propriedades biológicas do solo e reduzir o uso de fertilizantes sintéticos, pelo acréscimo de microrganismos benéficos. Tais medidas fazem parte de um manejo integrado da fertilidade do solo que promove menor impacto ambiental, utilizando o potencial ainda pouco conhecido da biodiversidade para diminuir a dependência de sistemas agrícolas nacionais a insumos provenientes de outros países.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Caracterizar as espécies em simbiose (Sistema *Azteca-Cecropia*) e avaliar microrganismos cultiváveis associados para solubilização de fosfato.

3.2 Objetivos Específicos

- ❖ Isolar bactérias do sistema simbiótico Formiga-Planta com capacidade de solubilização de fosfato;
- ❖ Avaliar o índice de solubilização de fosfato dos isolados obtidos;
- ❖ Realizar a identificação molecular a nível de gênero das bactérias e formigas que compõem a simbiose.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta de Material

As coletas de material biológico foram realizadas na comunidade do Açupuranga, município de Autazes, Amazonas. Plantas de Embaúba foram identificadas com base em características morfológicas como presença de triquilhas, prostomas, corpos mullerianos e pelas características peculiares das folhas, descritas por Berg, Rosselli e Davidson (2005). Posteriormente a presença de formigas foi confirmada com uma batida suave no tronco da árvore que normalmente leva ao aparecimento de atividade de formigas na superfície da planta. Após a identificação da planta e confirmação da atividade de formigas, o ápice da planta foi cortado e aberto em corte longitudinal com facão desinfetado com álcool 70%. Foram coletadas 5 plantas distintas e com auxílio de uma alça inoculadora estéril foi realizado o plaqueamento direto de microrganismos do interior da superfície das domácias em placas de Petri contendo meio de cultura PVK (Pikovskaya agar). As placas foram mantidas a 28 °C por 48 h e observadas quanto à solubilização de halos; placas apresentando halos foram utilizadas para subcultura e isolamentos bacterianos. Após o primeiro subcultivo, os materiais biológicos que mantiverem halos de solubilização em meio PVK foram isolados pelo método de esgotamento por estrias. De cada planta também foi coletada amostras de formiga na região das domaceas para posterior extração de DNA e sequenciamento da região CO1.

4.2 Identificação Molecular

A extração de DNA das bactérias e formigas foi pelo método CTAB, a qualidade das amostras de DNA foi analisada em gel de agarose 1,5% e a concentração e as relações 260/280 e 260/230 estimadas por espectrometria utilizando Nanodrop. As reações de amplificação foram realizadas utilizando as regiões 16S (JAMES, 2010) para as bactérias e CO1 para as formigas (FOLMER *et al.*, 1994) com os primers P027/1492r (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3' / 5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') e LCO1490/HCO2198 (5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' / 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA -3') respectivamente. Os produtos de PCR foram purificados por precipitação com PEG. As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando volume de 10 µL, sendo 5 µL de produtos de PCR purificados; 2 µL de Big Dye v3.1 (Thermo Fisher); 2 µL de tampão 5X (Applied Biosystems); e 3,2 pmol de cada primer. As reações de sequenciamento foram

posteriormente analisadas em um sequenciador 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher). A identificação a nível de gênero foi realizada por meio de BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov) da sequência consenso gerada.

4.3 Determinação do Índice de Solubilização de Fosfato

Foram inoculados isolados bacterianos no centro de placas PVK, incubados a 30 °C e fotografados no quinto dia. O diâmetro transversal e longitudinal da colônia e o halo foram medidos utilizando o software ImageJ. O índice de solubilização de fosfato (IS) foi calculado para cada isolado utilizando a seguinte fórmula: $IS = (H+C)/C$; foram H: diâmetro dos halos transversal e longitudinal; e C: diâmetro transversal e longitudinal da colônia. Os dados de IS foram submetidos a análise de variância e teste de Scott-Knott utilizando software R. (R Core Team et. al, 2016) De acordo com os valores do índice de solubilização (IS) obtidos, as bactérias foram classificadas como de baixo valores menores que 2; médio de 2 a 3; e alto IS maior que 3 (SILVA FILHO; VIDOR, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 5 plantas coletadas conforme figura 1, apenas as plantas A, B e C apresentaram a presença de formigas e microrganismos com capacidade de solubilização de fosfato, em duas plantas coletadas apesar de confirmada a presença de formigas na superfície da planta não foram encontradas formigas no interior das domaceas formando colônias. As plantas sem a presença de formigas não apresentaram microrganismos capazes de produzir halos de solubilização em meio de cultura PVK, possivelmente por estarem localizadas próximas a áreas agrícolas. Portanto, estima-se que a aplicação de pesticidas nas proximidades pode ter influenciado na presença de colônias de formigas no interior das plantas de embaúba. Foram isoladas e avaliadas um total de 80 bactérias, contudo apenas 5 apresentaram IS de médio a alto, conforme tabela 1.

Figura 1 - Coleta de material biológico e plaqueamento direto de microrganismos de embaúba (*Cecropia* sp.).

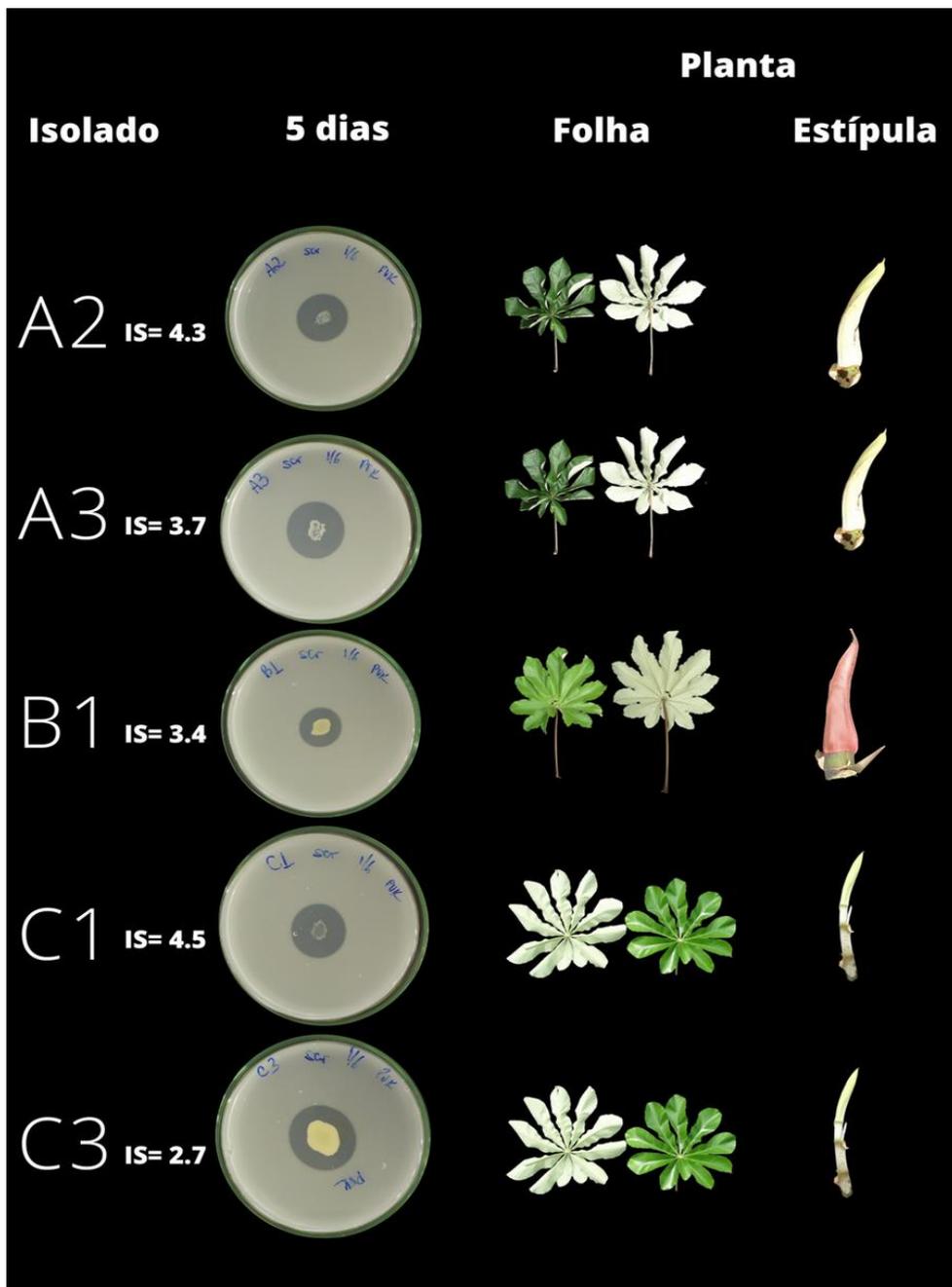


Fonte: Autor,(2023).

A análise de variância revelou que houve diferença significativa para os valores de IS entre isolados avaliados. Na Tabela 1 é possível observar a hierarquização obtida pelo teste de médias, onde médias seguidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Obtivemos o valor de 9.06% para o coeficiente de variação para os dados de IS dos isolados A2, A3, B1, C1 e C3 indicando baixa variabilidade dos dados em relação à média. De acordo com teste de Scott-Knott os isolados A2 e C1 apresentaram maiores valores de IS, 4,34 e 4,51 respectivamente, seguidos de A3 e B1, que apresentaram valores de 3,71 e 3,47 respectivamente e C3 apresentou o menor resultado de 2,79 (Tabela 1).

Os halos de solubilização indicam que houve a liberação de metabólico capaz de dissociar a forma inorgânica do tri-cálcio fosfato liberando o íon fosfato numa forma solúvel e prontamente assimilável pelas plantas. Os tipos de moléculas mais comumente associadas a este processo são ácidos orgânicos, fosfatases e fitases (RAWAT *et al.*, 2021). Os halos de solubilização avaliados podem ser observados na figura 2.

Figura 2 - Halos de solubilização de fosfato em meio de cultura PVK com os respectivos valores de IS; folha e estípula das plantas de *Cecropia* sp coletadas.



Fonte: Autor, (2023).

Tabela 1 – Valores médios de diâmetro de colônia, halo de solubilização em meio de cultura PVK, índice de solubilização de fosfato de classificação de IS segundo SILVA FILHO e VIDOR (2000) das bactérias isoladas de *Cecropia* sp.

Isolado	Colônia (cm)	Halo (cm)	IS*	Classificação
A2	0.78±0.10	2.68±0.04	4.34 a	alto
A3	0.99±0.17	3.08±0.04	3.71 b	alto
B1	0.96±0.13	2.18±0.04	3.47 b	alto
C1	0.86±0.11	2.75±0.03	4.51 a	alto
C3	1.74±0.22	3.28±0.12	2.79 c	médio
Pr(>F)**			0.0006	
CV(%)***			9.06	

* médias seguidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

**valor p da estatística F

*** coeficiente de variação

Apesar dos isolados A3/B1 e A2/C1 serem estatisticamente diferentes para os valores de IS segundo o teste de Scott-Knott a 5% de significância eles ficaram categorizados na mesma classificação de potencial de solubilização de fosfato segundo SILVA FILHO e VIDOR (2000).

Tabela 2 - Identificação molecular baseada nas sequências do gene 16S rRNA e CO1, e o índice de solubilização de fosfato (IS).

Isolado	IS*	Identificação baseada no 16S	N acesso no GenBank	Cobertura (%)	E value	Identidade (%)
A2	Alto	<i>Pantoea cyripedii</i>	KX507160.1	100	0,0	98
A3	Alto	<i>Pantoea cyripedii</i>	KX507160.1	99	0,0	98
B1	Alto	<i>Pantoea dispersa</i>	MT386231.1	99	0,0	99
C1	Alto	<i>Pantoea cyripedii</i>	MN428177.1	100	0,0	97
C3	Médio	<i>Serratia rubidaea</i>	MN793318.1	90	0,0	98
Formiga		Identificação baseada no mtDNA CO1	N acesso no GenBank	Cobertura (%)	E value	Identidade (%)
FA		<i>Azteca ovaticeps</i>	JQ867544.1	95	0,0	92
FB		<i>Azteca ovaticeps</i>	JQ867544.1	93	0,0	95
FC		<i>Azteca ovaticeps</i>	JQ867544.1	94	0,0	95

*Classificação do índice de solubilização de fosfato segundo SILVA FILHO e VIDOR (2000).

Os resultados de BLAST indicam que as bactérias podem pertencer ao gênero *Pantoea*, com exceção da C3 cujo gênero de maior similaridade foi *Serratia* (Tabela 2). O isolado A2 e A3 apresentaram identidade de 98% com a espécie *Pantoea cypripedii* (KX507160.1), o isolado C1 também apresentou identidade com a espécie *Pantoea cypripedii*, porém de 97% e com o acesso MN428177.1. O isolado B1 apresentou 99% de identidade com a espécie *Pantoea dispersa* (MT386231.1) e o isolado C3, 98% de identidade com a espécie *Serratia rubidae* (MN793318.1). As formigas coletadas das plantas A, B e C apresentaram identidade de 92%, 95% e 95% com a espécie *Azteca ovaticeps* (JQ867544.1) respectivamente.

O gênero *Pantoea* compreende espécies isoladas de diversos ambientes, este gênero é constituído por bactérias gram-negativas da família *Enterobacteriaceae* onde cerca de 20 espécies foram identificadas. Isolados da água e do solo têm sido aproveitados para fins industriais, incluindo biorremediação e degradação de herbicidas e outros produtos tóxicos. Alguns isolados possuem capacidades de fixação de nitrogênio e promoção do crescimento de plantas, e estão sendo exploradas para aplicações agrícolas. Outros isolados são produtores de antibióticos e foram desenvolvidos em agentes de biocontrole para o manejo de doenças de plantas. *Pantoea* também é conhecida por formar associações com uma variedade de hospedeiros, incluindo plantas, insetos e humanos. Embora muitas vezes considerado um patógeno de plantas, evidências recentes sugerem que *Pantoea* está sendo frequentemente isolada do ambiente nosocomial, relacionadas a doenças humanas (WALTERSON; STAVRINIDES, 2015).

Alguns isolados de *Pantoea* foram utilizados para elaboração de produto comercial para o controle de “fireblight” em macieiras, denominado “BlightBan C9-1” (JOHNSON *et al.*, 2000). Espécies epifíticas de *Pantoea* foram isoladas de diversos produtos agrícolas como por exemplo, repolho, alho-poró, espinafre, tomate, kiwi, caqui, trigo, feijão, aveia, soja, cebola, cereja, arroz, abacaxi, sorgo, ameixa e eucaliptos (Oie *et al.* (2008), Nadarasah e Stavrínides (2014), Mergaert, Verdonck e Kersters (1993), Brady *et al.* (2009), Janisiewicz *et al.* (2013)), essa presença em inúmeras espécies vegetais sugere que bactérias do gênero *Pantoea* possuem certa adaptação para colonização da filosfera, como é o caso da produção de pigmentação amarela característico do gênero, que atua na resistência contra radiação UV permitindo seu estabelecimento na superfície de plantas onde há intensa exposição a luz solar (MOHAMMADI *et al.*, 2012).

Bactérias do gênero *Pantoea* também foram isoladas de inúmeros insetos como pulgão, gafanhoto, mosca-das-frutas, abelha, tripes, lagarta, filoxera, mosquitos, escaravelho, formigas dentre outros (HARADA *et al.* (1996), Dillon e Chamley (1995), (PANKAJ; AMIT, 2002), Lauzon *et al.* (2009), Loncaric *et al.* (2009), WELLS, GITAITIS e SANDERS (2002),

VORWERK, BLAICH e FORNECK (2005), Nadarasah e Stavrinides (2014), MEDINA, NACHAPPA e TAMBORINDEGUY (2011), Maleki-Ravasan *et al.* (2014), Demirci *et al.* (2013), Terenius *et al.* (2012), PINTO-TOMÁS *et al.* (2009), Walterson e Stavrinides (2015)). Espécies de *Pantoea* formam associações mutualísticas com uma ampla variedade de insetos sendo encontradas alojadas em regiões intercelulares e intracelulares (VORWERK; BLAICH; FORNECK, 2005). Nessa relação mutualística com insetos estima-se que bactérias do gênero *Pantoea* se beneficiam pela obtenção de habitat, nutrientes e meio de dispersão, enquanto o hospedeiro se beneficia da hidrólise de proteínas por parte das bactérias, controle de patógenos, degradação de substâncias tóxicas e fixação de nitrogênio (Pankaj e Amit (2002), Vorwerk, Blaich e Forneck (2005), MACCOLLOM *et al.* (2009)).

Bactérias do gênero *Pantoea* foram isoladas de “jardins de formigas” de formigas cortadeiras e estima-se que desempenham um importante papel na fixação de nitrogênio desta fonte de alimento e dessa forma permitem o uso por parte das formigas de material vegetal com baixos níveis deste elemento em uma relação de comensalismo (PINTO-TOMÁS *et al.*, 2009). Os isolados obtidos no presente trabalho foram isoladas da superfície interna de plantas de embaúba, de estruturas denominadas domaceas, onde há a presença de formigas e “jardins de formigas” portanto, não é possível determinar se a biota de origem destes microrganismos foi de plantas ou formigas, porém os resultados relatados condizem com o hábito mutualístico de bactérias do gênero *Pantoea* de viverem em associação com “jardins de formigas”, plantas e/ou insetos.

Cinco isolados apresentaram potencial de solubilização de fosfato inorgânico. De acordo com a tabela de classificação baseada nos índices de solubilização de fosfato em meio Pikovskaya agar *in vitro*, 4 isolados apresentaram alto índice de solubilização, e um isolado apresentou IS médio, os isolados com baixos índices de solubilização foram descartados. Os isolados A2, A3, B1 e C1 apresentaram alto índice de solubilização de fosfato, enquanto o isolado C3 apresentou IS médio (Tabela 1). Os dados indicam que as bactérias isoladas do sistema *Azteca-Cecropia* apresentam valores expressivos de IS.

Chakdar *et al.* (2018) isolaram bactérias com alta eficiência em solubilização de fosfato, dentre elas duas pertencentes ao gênero *Pantoea* apresentaram valores de IS de 1,8 (*Pantoea* sp. A34) e 2,0 (*Pantoea* sp. A3). Kirui, Njeru e Runo (2022) avaliaram 71 bactérias solubilizadoras de fosfato e obtiveram valores de IS que variaram de 1,14 (isolado 7) até 5,8 (isolado 22) e verificaram que apenas 20% dos isolados analisados apresentaram IS maior que 4. Prasad *et al.* (2022) também relataram bactérias do gênero *Pantoea* com altos índices de solubilização de fosfato, apresentando valores de 4,7 (HCF6) e 5,4 (HCF9) em meio NBRIP

(National Botanical Research Institute's phosphate growth medium).

Chen *et al.* (2014) isolaram 5 bactérias endofíticas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com capacidade de solubilização de fosfato, dentre elas *Pantoea dispersa* (Cav.cy1) e *Pantoea cypripedii* (Cav.cy2), sendo o isolado Cav.cy1 o que apresentou maior capacidade de solubilização em diferentes tratamentos em meio líquido NBRIP contendo fosfato na forma de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, AlPO_4 , e FePO_4 , tal solubilização foi possível mediante a produção de ácidos como succinato, ácido oxálico, ácido cítrico, ácido salicílico e ácido benzenoacético.

Chen e Liu (2019) avaliaram o isolado de *Pantoea* S32 obtido da rizosfera de alfafa (*Medicago sativa*) e obteve resultados significativos para solubilização de fosfato, tanto na forma inorgânica quanto na forma orgânica, além disso, promoveu o crescimento de plantas de arroz, com efeito, benéfico na altura de planta e incremento de massa seca, indicando o possível potencial deste isolado para formulação de biofertilizantes. Saadouli *et al.* (2021) relataram os efeitos de solubilização de fosfato *in vitro* por *Pantoea agglomerans* associado a produção de ácido glucônico e ressaltou o potencial de uso de bactérias solubilizadoras de fosfato para elaboração de inoculantes que aumentem a disponibilidade de P no solo. Os dados obtidos corroboram com os resultados relatados. Singh *et al.* (2014) demonstraram o potencial do isolado PS1 da espécie *Pantoea cypripedii* obtida de planta de grão-de-bico (*Cicer arietinum*), tal isolado apresentou além de capacidade de solubilização de fosfato, produção de sideróforo e ácido indolacético também promoveu o crescimento de plantas de grão-de-bico.

Serratia é um gênero de bactérias Gram-negativas capazes de prosperar em diversos ambientes, conhecidas por sua capacidade de produzir uma diversidade de enzimas extracelulares. A escassez de isolados ambientais limita a compreensão do potencial de *Serratia* produzir novos bioativos naturais e sua capacidade de serem usados na agricultura sustentável como agentes de biocontrole. As bactérias do gênero *Serratia* são da família *Enterobacteriaceae* que estão classificadas, até o momento, em dezoito espécies descritas. É um grupo extremamente diverso de bactérias, capazes de ocupar muitos habitats como, água, solo, plantas, vertebrados e humanos, podem ser benéficas ou patogênicas, para plantas economicamente importantes e humanos dependendo da espécie (SOENENS; IMPERIAL, 2020).

Behera *et al.* (2017) isolaram bactéria de solo de mangue pertencente ao gênero *Serratia* com capacidade de solubilização de fosfato em NBRIP, foi detectado a produção de diversos ácidos pelo isolado PSB-37 no processo de solubilização em meio líquido, como por exemplo, ácido málico, ácido lático e ácido acético. Blanco-Vargas *et al.* (2020) relataram o efeito benéfico do isolado C7 do gênero *Serratia* em co-cultivo com outra do gênero *Pseudomonas* (A18) sob a germinação de cebola (*Allium cepa*), o isolado C7 apresentou índice de solubilização de fosfato

2,0 em meio contendo fosfato de rocha como fonte de fosfato e o consórcio bacteriano promoveu incremento da massa seca de plantas de cebola.

Aliyat *et al.* (2020) isolaram bactérias do gênero *Serratia* de raízes do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) com índices de solubilização de fosfato de 3,2 (PH1) e 2,8 (PH2), tais isolados além de aumentarem a disponibilidade de fosfato com a liberação de ácidos, apresentaram resistência a diversos pesticidas, o que pode ser uma característica que leve a uma maior resiliência em campo, onde a presença destas substâncias é comum. Farhat *et al.* (2009) obtiveram o isolado CTM 50650 a partir de amostras de solo de uma mina de fosfato, este isolado foi eficiente na solubilização de várias fontes inorgânicas de fosfato como, fosfato de rocha, CaHPO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e hidroxiapatita, o processo de solubilização foi associado a produção e liberação de ácido glucônico.

Ludueña *et al.* (2018) avaliaram o genoma do isolado S119 do gênero *Serratia* (DSM 105060), uma bactéria endofítica que apresenta alta capacidade de solubilização de fosfato e promoção do crescimento em amendoim (*Arachis hypogaea*) e milho (*Zea mays*). Foram detectados genes para rota biossintética de ácido glucônico e genes relacionados a outras características de promoção do crescimento de plantas como síntese de reguladores de crescimento, sideróforos, indutores de resistência e genes de produção de enzimas antifúngicas.

A espécie *Serratia rubidae* (ED1) foi relatada como de alto potencial por Mahdi *et al.* (2021) onde de um grupo de 34 bactérias endofíticas isoladas de quinoa (*Chenopodium quinoa*) apresentou a maior capacidade de solubilização de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e ZnO , produção de sideróforos, celulase e ácido indolacético (AIA), além disso, promoveu a germinação e crescimento de sementes de quinoa sob condições de salinidade. O isolado ED1 também apresentou resistência a sete antibióticos frequentemente prescritos clinicamente, tais resultados nos alertam dos possíveis potenciais do isolado C3 que apresentou alta similaridade com a espécie *Serratia rubidae*, contudo estudos adicionais devem ser realizados para melhor compreensão da aplicação deste ativo biológico. Aliyat *et al.* (2020) também relataram um isolado da espécie *Serratia rubidae* apresentando alto potencial de solubilização de fosfato em meio líquido NBRIP, onde liberou $174.33\mu\text{g/ml}$ de fósforo após 7 dias de incubação a 28 C e 120 rpm/min.

O gênero *Azteca* é composto por pouco mais de 60 espécies sendo 13 destas especialistas em associação com plantas de embaúba, as formigas *Azteca* tendem a ter colônias populosas, com operárias que tendem a vasculhar e caçar presas vivas, geralmente insetos aliados e, às vezes, incluindo formigas concorrentes. As colônias *Azteca* subdividem o trabalho por subcastas,

com grandes operárias estacionadas em galhos nas principais interseções dos ramos, nas bases das plantas e nas bordas das colônias (BERG; ROSSELLI; DAVIDSON, 2005).

A espécie *Azteca ovaticeps* ocorre em regiões tropicais de baixa altitude mais especificamente da Costa Rica até a região Amazônica, é bastante similar a *Azteca alfari* distinguindo-se apenas em algumas características morfológicas como descrito por LONGINO (2007). *Azteca ovaticeps* é uma espécie de formiga que faz obrigatoriamente associação com plantas, se alojando no interior dos galhos ocos de árvores de *Cecropia* spp. É mais abundante em áreas de florestas maduras, florestas secundárias mais antigas e margens de rios em florestas maduras enquanto *Azteca alfari* é mais predominante em *habitat* abertos e altamente perturbados, como estradas e áreas agrícolas (LONGINO, 2007). *Azteca alfari* e *Azteca ovaticeps* são espécies comumente encontradas em associação com árvores de *Cecropia* spp. o que corrobora com os resultados obtidos com a identificação molecular das amostras de formiga. Reis *et al.* (2022) estudaram o efeito do ambiente na relação simbiótica *Azteca-Cecropia*, onde avaliaram o tamanho populacional das colônias de formiga de 60 plantas coletadas de floresta secundária e 60 plantas coletadas de área de pastagem. Os dados indicaram que no geral, plantas coletadas em floresta detinham colônias maiores, indicando que a conversão de *habitat* mais complexos em áreas de menor biodiversidade pode levar a uma redução de colônias de formigas *Azteca*. Tal resultado corrobora com os dados obtidos de ausência de colônias em áreas agrícolas.

6 CONCLUSÃO

- ❖ Foram isoladas 80 bacterias de diferentes sistemas *Azteca-Cecropia* das quais 5 bacterias com capacidade de solubilização de fosfato in vitro;
- ❖ Os índices de solubilização de fosfato avaliados variaram de 2,7 (C3) a 4,5 (C1);
- ❖ As bacterias avaliadas pertencem ao gênero *Pantoea* e *Serratia*, enquanto que as formigas em simbiose com plantas de *Cecropia* pertencem ao genero *Azteca*.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. S. *et al.* Maize endophytic bacteria as mineral phosphate solubilizers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 1, p. 1 – 13, 2017.
- ALIYAT, F. Z. *et al.* Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from phosphate solid sludge of the moroccan phosphate mines. **The Open Agriculture Journal**, v. 14, n. 1, 2020.
- ANDERSON, A. J.; KIM, Y. C. Biopesticides produced by plant-probiotic *Pseudomonas chlororaphis* isolates. *Crop Protection*. **Crop Protection**, v. 105, p. 62 – 69, mar. 2018.
- ARENHART, B. **Avaliação do potencial de remoção de fósforo de efluentes a partir da utilização de lodo de ETA rico em alumínio como adsorvente**. 2019. Monografia (Engenharia Sanitária e Ambiental) — UFSC.
- BATISTA, F. C. *et al.* **Potencial de microrganismos rizosféricos e endofíticos de milho em solubilizar o fosfato de ferro e produzir sideróforos**: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento.sete lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018.
- BEHERA, B. *et al.* Phosphate solubilization and acid phosphatase activity of *Serratia* sp. isolated from mangrove soil of Mahanadi river delta, Odisha, India. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 169 – 178, 2017.
- BERG, C. C.; ROSSELLI, P. F.; DAVIDSON, D. W. *Cecropia*. **New York Botanical Garden Press on behalf of Organization for Flora Neotropica**, v. 94, p. 1 – 130, maio 2005. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/4393938>.
- BLANCO-VARGAS, A. *et al.* Phosphate-solubilizing *Pseudomonas* sp., and *Serratia* sp., co-culture for *Allium cepa* L. growth promotion. **Heliyon**, v. 6, n. 10, p. e05218 –, 2020.
- BRADY, C. L. *et al.* Isolation of *Enterobacter cowanii* from Eucalyptus showing symptoms of bacterial blight and dieback in Uruguay. **Letters in applied microbiology**, v. 49, p. 461 – 5, 82009.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2ª Edição. Piracicaba/SP: ESALQ, 2016.
- CENTURION, S. R. **Uso de biofertilizante na adubação do capim piatã**. 2014. 69 p. Dissertação (PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA) — Faculdade de Ciências Agrárias (UFGD).
- CHAKDAR, H. *et al.* Characterization of mineral phosphate solubilizing and plant growth promoting bacteria from termite soil of arid region. **3 Biotech**, v. 8, p. 463 –, 11 2018.
- CHEN, Q.; LIU, S. Identification and Characterization of the Phosphate-Solubilizing Bacterium *Pantoea* sp. S32 in Reclamation Soil in Shanxi, China. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2171–, 2019.

- CHEN, Y. *et al.* The application of phosphate solubilizing endophyte *Pantoea dispersa* triggersthe microbial community in red acidic soil. **Applied Soil Ecology**, v. 84, p. 235 – 244, 2014.
- COSTA, F. *et al.* Viabilidade técnica do uso de biofertilizantes para melhoria das características químicas do solo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 16, n. 3, p. 1 – 7, 2021.
- COSTA, G. M.; SCHENKEL, E. P.; REGINATTO, F. H. Chemical and pharmacological aspects of the genus *Cecropia*. **Natural product communications**, v. 6, p. 913 – 20, 8 2011.
- DEMIRCI, M. *et al.* Culturable bacterial microbiota of *Plagioder a versicolora* (L.)(Coleoptera:Chrysomelidae) and virulence of the isolated strains. **Folia microbiologica**, v. 58, p. 201 – 210,2013.
- DÍEZ-MÉNDEZ, A.; MENÉNDEZ, E. *Rhizobium* Presence and Functions in Microbiomes of Non-leguminous Plants. **Symbiotic Soil Microorganisms**, v. 60, p. 241 – 266, October 2021.
- DILLON, R. J.; CHAMLEY, A. K. Chemical barriers to gut infection in the desert locust: in vivo production of antimicrobial phenols associated with the bacterium *Pantoea agglomerans*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 66, n. 1, p. 72 – 75, 1995.
- ERDEMCI İrfan. Effect of *Pseudomonas* Fluorescent *Rhizobacteria* on Growth and Seed Quality in Lentil (*Lens Culinaris* Medik.). **COMMUNICATIONS IN SOIL SCIENCE AND PLANT ANALYSIS**, v. 51, n. 14, p. 1852 – 1858, Agosto 2020/5.
- ETESAMI, H.; EMAMI, S.; ALIKHANI, H. A. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 17, n. 4, p. 897 – 911, 2017.
- FARHAT, M. B. *et al.* Characterization of the mineral phosphate solubilizing activity of *Serratia marcescens* CTM 50650 isolated from the phosphate mine of Gafsa. **Archives of microbiology**,v. 191, p. 815 – 824, 2009.
- FOLMER, O. *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular marine biology and biotechnology**,v. 3, n. 5, p. 294 – 9, 10 1994.
- FUKUDA, T. T. H. *et al.* Insights Into the Ecological Role of . **Frontiers in microbiology**, v. 12, p. 621274 –, 2 2021.
- GARRIDO, E. C. *et al.* Tecnologias para a Produção de Biofertilizantes: tendências e oportunidades. **Cadernos de Prospecção**, v. 12, n. 3, p. 1 – 655, 2019. Disponível em: DOI:10.9771/cp.v12i3.27298.
- GIBERT, A.; TOZER, W.; WESTOBY, M. Plant performance response to eight different types of symbiosis. **New Phytologist**, v. 222, n. 1, p. 526 – 542, abril 2019.
- GUTIÉRREZ-VALENCIA, J.; CHOMICKI, G.; RENNER, S. S. Recurrent breakdowns of mutualisms with ants in the neotropical ant-plant genus *Cecropia* (Urticaceae). **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 111, p. 196 – 205, 4 2017.

HAMDAN, A. M.; ABD-EL-MAGEED, H.; GHANEM, N. Biological treatment of hazardous heavy metals by *Streptomyces rochei* ANH for sustainable water management in agriculture. **Scientific reports**, v. 11, p. 9314 – 4 2021.

HARADA, H. *et al.* A consideration about the origin of aphid intracellular symbiont in connection with gut bacterial flora. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 17 – 26, 1996.

JAMES, G. Universal Bacterial Identification by PCR and DNA Sequencing of 16S rRNA Gene. **In: PCR for Clinical Microbiology**, Dordrecht: Springer Netherlands, p. 209 – 2014, 2010.

JANISIEWICZ, W. J. *et al.* Culturable bacteria from plum fruit surfaces and their potential for controlling brown rot after harvest. **Postharvest biology and technology**, v. 76, p. 145 – 151, 2013.

JOHNSON, K. B. *et al.* Assessment of Environmental Factors Influencing Growth and Spread of *Pantoea agglomerans* on and Among Blossoms of Pear and Apple. **Phytopathology**, v. 90, n. 11, p. 1285 – 1294, August 2000.

JOSHIX, S. K.; GAURAHA, A. K. Global biofertilizer market: Emerging trends and opportunities. **Trends of Applied Microbiology for Sustainable Economy**, p. 689 – 697, 2022.

KALAYU, G. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, v. 2019, n. 20, p. 1 – 8, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>.

KIRUI, C. K.; NJERU, E. M.; RUNO, S. Diversity and Phosphate Solubilization Efficiency of Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Semi-Arid Agroecosystems of Eastern Kenya. **Microbiology insights**, v. 15, p. 11786361221088991 – 4 2022.

KOUR, D. *et al.* Potassium solubilizing and mobilizing microbes: Biodiversity, mechanisms of solubilization, and biotechnological implication for alleviations of abiotic stress. **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**, ELSEVIER, p. 177 – 202, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820526-6.00012-9>.

KUMAR, M. *et al.* Proactive role of *Streptomyces* spp. in plant growth stimulation and management of chemical pesticides and fertilizers. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 19, p. 10457 – 10476, June 2021.

KWAK, M. *et al.* Genome Information of *Methylobacterium oryzae*, a Plant-Probiotic Methylophile in the Phyllosphere. **PROS ONE**, v. 9, n. 9, p. 106704 – 11, set 2014/11.

LAUZON, C. R. *et al.* Establishment and Vertical Passage of *Enterobacter (Pantoea) agglomerans* and *Klebsiella pneumoniae* through All Life Stages of the Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 102, n. 1, p. 85 – 95, 2009.

LONCARIC, I. *et al.* Typing of *Pantoea agglomerans* isolated from colonies of honey bees (*Apis mellifera*) and culturability of selected strains from honey. **Apidologie**, v. 40, n. 1, p. 40 – 54,

2009.

LONGINO, J. T. A taxonomic review of the genus *Azteca* (Hymenoptera: Formicidae) in Costa Rica and a global revision of the aurita group. 2007.

LOPES, A. S. **INSTITUTO DA POTASSA & FOSFATO: Manual Internacional de fertilidade do solo**. 2. ed. Piracicaba, 1998.

LUCAS, J. M. *et al.* *Azteca* ants maintain unique microbiomes across functionally distinct nest chambers. **Proceedings. Biological sciences**, v. 286, p. 20191026 – , 8 2019.

LUDUEÑA, L. M. *et al.* Strain *Serratia* sp. S119: a potential biofertilizer for peanut and maize and a model bacterium to study phosphate solubilization mechanisms. **Applied Soil Ecology**, v. 126, p. 107 – 112, 2018.

MACCOLLOM, G. B. *et al.* Association and Attraction of Blueberry Maggot Fly Curran (Diptera: *Tephritidae*) to *Pantoea* (*Enterobacter*) *agglomerans*. **Environmental Entomology**, v. 38, n. 1, p. 116 – 120, 2009.

MACIK, M.; GRYTA, A.; F, M. Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. **Chapter Two -Advances in Agronomy**, ELSEVIER, v. 162, p. 31 – 87, 2020.

MAHDI, I. *et al.* Halotolerant endophytic bacterium *Serratia rubidaea* ED1 enhances phosphatesolubilization and promotes seed germination. **Agriculture**, v. 11, n. 3, p. 224 – , 2021.

MALEKI-RAVASAN, N. *et al.* Aerobic microbial community of insectary population of *Phlebotomus papatasi*. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 8, n. 1, p. 69 – , 2014.

MARTING, P. R.; KALLMAN, W. T. W. N. M.; PRATT, S. C. Ant-plant sociometry in the *Azteca-Cecropia* mutualism. **scientific reports**, v. 8, n. 1, p. – 17968, 2018. ISSN 20452322. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-36399-9>.

MAYER, V. E. *et al.* Transmission of fungal partners to incipient *Cecropia*-tree ant colonies. **PLoS ONE**, v. 13, n. 2, fev 2018. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0192207>. Acesso em: 07/02/2023.

MEDINA, R. F.; NACHAPPA, P.; TAMBORINDEGUY, C. Differences in bacterial diversity of host-associated populations of *Phylloxera notabilis* Pergande (Hemiptera: Phylloxeridae) in pecan and water hickory. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 24, n. 4, p. 761 – 771, 2011.

MERGAERT, J.; VERDONCK, L.; KERSTERS, K. Transfer of *Erwinia ananas* (synonym, *Erwinia uredovora*) and *Erwinia stewartii* to the Genus *Pantoea* emend. as *Pantoea ananas* (Serrano 1928) comb. nov. and *Pantoea stewartii* (Smith 1898) comb. nov., Respectively, and Description of *Pantoea stewartii* subsp. indologenes subsp. nov. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY**, v. 43, n. 1, p. 162 – 173, Jan 1993.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Programa Nacional de Bioinsumos**, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos>. Acesso em: 27/02/2023.

- MITTER, E. K. *et al.* Rethinking crop nutrition in times of modern microbiology: innovative biofertilizer technologies. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 606815 –, 2021.
- MOHAMMADI, M. *et al.* Biological Role of Pigment Production for the Bacterial Phytopathogen *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 19, p.6859 – 6865, 2012.
- NADARASAH, G.; STAVRINIDES, J. Quantitative evaluation of the host-colonizing capabilities of the enteric bacterium *Pantoea* using plant and insect hosts. **Microbiology (Reading, England)**, v. 160, p. 602 – 615, 1 2014.
- NASCIMENTO, C.; HOMMA, A. meio ambiente e tecnologia agrícola. In: NASCIMENTO, C.; HOMMA, A. (Ed.). **Amazônia**. 2. ed. Belém: Embrapa / CPATU, 2004. p. 1 – 286.
- NASCIMENTO, F. X.; G. HERNANDEZ, A.; GLICK, M. J. R. B. R. The extreme plant-growth-promoting properties of *Pantoea phytobeneficialis* MSR2 revealed by functional and genomic analysis. **ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**, v. 22, n. 4, p. 1341 – 1355, 2020.
- OFFENBERG, J.; DAMGAARD, C. Ants suppressing plant pathogens: a review. **Oikos**, v. 128, n. 12, p. 1691 – 1703, 2019.
- OIE, S. *et al.* Microbial contamination of fruit and vegetables and their disinfection. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 31, p. 1902 – 5, 10 2008.
- OLIVEIRA, G. V. de; CORREA, M. M.; DELABIE, J. H. Interação planta-inseto: Aspectos biológicos e ecológicos do mutualismo *Cecropia-Azteca*. **EntomoBrasilis**, v. 8, n. 2, 08 2015.
- OLIVEIRA-PAIVA, C. A. *et al.* **Inoculantes de microrganismos promotores de crescimento em milho: transferindo a diversidade do laboratório para o campo**. sete lagoas, 2018.
- PAIVA, C. **Produto com tecnologia brasileira pode reverter dependência externa por adubos fosfatados**. 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/45773416/produto-com-tecnologia-brasileira-pode-reverter-dependencia-externa-por-adubos-fosfatados>. Acesso em: 07 fev. 2023.
- PANKAJ, S.; AMIT, N. Bacteria associated with *Bactrocera* sp. (Diptera: Tephritidae) - isolation and identification. **Pest Management and Economic Zoology**, v. 10, n. 1, p. 1 – 9, 2002.
- PAVINATO, P. S. *et al.* Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Scientific reports**, v. 10, p. 15615 –, 9 2020.
- PINTO-TOMÁS, A. A. *et al.* Symbiotic nitrogen fixation in the fungus gardens of leaf-cutter ants. **Science**, v. 326, n. 5956, p. 1120 – 1123, 2009.
- PRASAD, P. *et al.* Phosphate solubilization and plant growth promotion by two *Pantoea* strains isolated from the flowers of *Hedychium coronarium* L. **Frontiers in Agronomy**, v. 4, September 2022.

- QUINN, G. A. *et al.* Streptomyces from traditional medicine: sources of new innovations in antibiotic discovery. **Journal medical Microbiology**, v. 69, n. 8, p. 1040 – 1048, Agosto 2020.
- RAWAT, P. *et al.* Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, p. 49 – 68, 2021.
- R CORE TEAM *et al.* R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>, 2016.
- REIS, A. S. *et al.* Habitat as a conditionality factor of ant-plant mutualistic interaction in the *Cecropia-Azteca* system. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 16, n. 2, p. 275 – 284, 2022.
- REIS, J. R. L. dos; FARIA, I. F.; FRAXE, T. de J. P. Geoconservação e Geoturismo na Amazônia. contexto e perspectivas no Geoparque Cachoeiras do Amazonas. **Revista Turismo em Análise, Manaus**, Manaus, v. 31, n. 1, p. 50 – 76, 2020.
- RITA, J. C. D. O. MINERALIZAÇÃO DAS FRAÇÕES ORGÂNICAS DE FÓSFORO DO SOLO E AGREGADOS DAS COBERTURAS VEGETAIS DO NORTE FLUMINENSE E DOS AGROSSISTEMAS DE CACAU NO SUL DA BAHIA. 2012. 98 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal - CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ) — UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO – UENF.
- RONQUIM, C. C. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais**. Campinas: Embrapa Territorial, 2020. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1128267>. Acesso em: 07/02/2023.
- SAADOULI, I. *et al.* The Impact of the Inoculation of Phosphate-Solubilizing Bacteria *Pantoea agglomerans* on Phosphorus Availability and Bacterial Community Dynamics of a Semi-Arid Soil. **Microorganisms**, v. 9, n. 8, p. 1661 –, 2021.
- SALES, J. C. F. de. **Digestão anaeróbia de dejetos suínos e resíduos de alimentos em Biodigestor Canadense**.: Anaerobic digestion of swine manure and food residues in Canadian Biodigester. 2017. 82f p. Dissertação (Ciências Agrárias - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar-Paraíba) — Universidade Federal de Campina Grande.
- SATTAR, A. *et al.* Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: A review. **Applied Soil Ecology**, ELSEVIER, v. 133, p. 146 – 159, january 2019.
- SILVA, A. C. M. D. **BIOFERTILIZANTES: ESTUDO DE OPINIÃO, TENDÊNCIA DAS PESQUISAS E LEGISLAÇÃO BRASILEIRA**. 2021. 79f p. Dissertação (Mestra em Ciências Ambientais) — UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA.
- SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSTATOS POR MICRORGANISMOS NA PRESENÇA DE FONTES DE CARBONO. **Revista brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 311 – 319, 2000.
- SINGH, O. *et al.* Novel phosphate solubilizing bacteria ‘*Pantoea cypripedii* PS1’ along with *Enterobacter aerogenes* PS16 and *Rhizobium ciceri* enhance the growth of chickpea (*Cicer*

arietinum L.). **Plant growth regulation**, v. 73, p. 79 – 89, 2014.

SOENENS, A.; IMPERIAL, J. Biocontrol capabilities of the genus *Serratia*. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, n. 3, p. 577 – 587, 2020.

SOUTO, L. A. **Microrganismos solubilizadores de fosfato: Usos e potencialidades na agricultura**. 2020. 24f p. Monografia (Graduação em Agronomia) — Universidade Federal de Uberlândia.

TAYLOR, B. N.; SIMMS, E. L.; KOMATSU, K. J. More Than a Functional Group: Diversity within the Legume–Rhizobia Mutualism and Its Relationship with Ecosystem Function. **Diversity**, v. 12, n. 2, p. 50 –, 2020.

TERENIUS, O. *et al.* Midgut bacterial dynamics in *Aedes aegypti*. **FEMS microbiology ecology**, v. 80, p. 556 – 65, 1 2012.

VORWERK, S.; BLAICH, R.; FORNECK, A. *Pantoea* sp.-An associated bacteria common in grape phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch). In. **III International Grapevine Phylloxera Symposium 733**, p. 47 – 51, 2005.

VORWERK, S.; BLAICH, R.; FORNECK, A. *Pantoea* sp.-An associated bacteria common in grape phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch). **III International Grapevine Phylloxera Symposium 733**, p. 47 – 51, 2005.

WALTERSON, A. M.; SMITH, D. D. N.; STAVRINIDES, J. Identification of a *Pantoea* Biosynthetic Cluster That Directs the Synthesis of an Antimicrobial Natural Product. **PLoS ONE**, Public Library of Science, v. 9, n. 5, p. e96208 –, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4010436/>.

WALTERSON, A. M.; STAVRINIDES, J. *Pantoea*: insights into a highly versatile and diversegenus within the *Enterobacteriaceae*. **FEMS microbiology reviews**, v. 39, p. 968 – 84, 6 2015.

WELLS, M. L.; GITAITIS, R. D.; SANDERS, F. H. Association of tobacco thrips, *Frankliniella fusca* (Thysanoptera: Thripidae) with two species of bacteria of the genus *Pantoea*. **Annals of the Entomological Society of America**, , v. 95, n. 6, p. 719-723, 2002., v. 95, n. 6, p. 719 – 723, 2002.

ZHANG, C. *et al.* Potentials, Utilization, and Bioengineering of Plant Growth-Promoting *Methylobacterium* for Sustainable Agriculture. **Sustainability**, v. 13, n. 7, p. 3941 –, Abril 2021.