Microrganismos promotores de crescimento vegetal em cana-de-açúcar e outras gramíneas

Christiane Abreu de Oliveira Paiva | Eliane Aparecida Gomes | Sylvia Morais de Sousa | Ubiraci Gomes de Paula Lana | Fabio Cesar da Silva | Fernando José Freire

Introdução

Diversas estratégias podem ser adotadas pelo agronegócio, incluindo a agroindústria sucroalcooleira, para otimizar os processos que impõem maiores custos de produção. Os fertilizantes contribuem para a maior parte desses custos, principalmente em solos de baixa fertilidade natural. Apenas para suprir a demanda nacional do agronegócio por nutrientes, o País importa, em média, 70% dos fertilizantes nitrogenados e fosfatados. Os dados do setor indicam que o mercado brasileiro de fertilizantes deve crescer 2,5% em 2020, com a entrega de 37 milhões de toneladas em comparação com 2019, que foi de 36,1 milhões de toneladas, o que significou um crescimento de 1,7% se comparado com o que o Brasil comprou no ano anterior (35,5 milhões de toneladas) (GlobalFert, 2020).

Estima-se que a produção de fertilizantes sintéticos, incluindo extração, transporte e fabricação, seja responsável por 1,2% da emissão de CO₂, sendo emitido 1 kg de CO₂ para cada kg de fósforo (P) e lançados 4,5 kg para cada kg de nitrogênio (N) consumido (Flynn; Smith, 2010). O uso excessivo de fertilizantes pode também levar à perda da qualidade biológica do solo e ao aumento da poluição do ar, bem como de rios e .nascentes. Isso não somente resulta em impactos ambientais negativos pela emissão de gases e eutrofização de mananciais, mas também

afeta a produção de alimentos seguros para o consumidor final (Withers et al., 2018). Além disso, as recomendações técnicas para elevadas produtividades em solos de baixa fertilidade se tornam inviáveis pelo alto custo. Assim, considera-se que tecnologias que reduzam o custo da fertilização das culturas sejam estratégicas para a contabilidade econômica do negócio.

A utilização de insumos baseados em microrganismos é considerada uma alternativa econômica e ambientalmente sustentável quando comparada aos métodos de fertilização tradicionais. Inoculantes microbianos, caracterizados por cepas de microrganismos que atuam positivamente no desenvolvimento das plantas, como as bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), podem desempenhar papel importante na produção de culturas sustentáveis, reduzindo o impacto ambiental e os riscos à saúde humana. O uso de inoculantes microbianos pode ser considerado uma tecnologia que aumenta o componente biológico nos sistemas de produção, garantindo a saúde do solo, tanto pela possibilidade de diminuição do uso de fertilizantes sintéticos quanto pela adição de microrganismos benéficos (Nazir et al., 2018). Isso garante a essa prática um importante destaque dentro do manejo integrado de fertilizantes, alcançando visibilidade em programas importantes do governo, como no Plano ABC - Agricultura de Baixa Emissão de Carbono e,

mais recentemente, no Programa Nacional de Bioinsumos, que visam aproveitar o potencial da biodiversidade brasileira para reduzir a dependência em relação aos insumos sintéticos importados.

As BPCP são capazes de fornecer melhor adaptabilidade e sobrevivência às plantas sob condições de estresse biótico e abiótico, além de apresentar o potencial de mitigar o uso excessivo de pesticidas e fertilizantes na agricultura (Bashan et al., 2014; Singh et al., 2016; Alori et al., 2017; Alori; Babalola, 2018). Elas são capazes de estimular o crescimento das plantas em diferentes estágios de desenvolvimento por meio de mecanismos diretos, como a aquisição de nutrientes, como N, P, potássio (K) e outros minerais essenciais, ou ainda a modulação de níveis de hormônios vegetais por meio de produção, estímulo ou inibição de fitormônios, como auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico e etileno, que podem levar ao aumento da superfície radicular e ao maior crescimento vegetativo (Tabassum et al., 2017; Backer et al., 2018; Nazir et al., 2018). As BPCP atuam também por mecanismos indiretos, que incluem o controle biológico de insetos-pragas e das doenças por competição ou antibiose e a resistência sistêmica induzida, além da tolerância a estresses abióticos, principalmente seca e salinidade (Varma et al., 2017; Backer et al., 2018; Nazir et al., 2018; Wallace; May, 2018; Sousa et al., 2020; Velloso et al., 2020).

A aplicação de inoculantes microbianos existe há mais de 100 anos, mas ganhou destaque nas últimas três décadas, com vários produtos comerciais no mercado (Alori et al., 2017). A Tabela 11.1 mostra os principais inoculantes lançados no Brasil para cana-de-açúcar e outras gramíneas. Existe grande potencial de crescimento do uso de inoculantes, uma vez que são comercializados por ano aproximadamente 80 milhões de doses de inoculantes para N, dos quais 87%

são direcionados para a cultura da soja e apenas 10% para gramíneas, segundo a Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes (Jones, 2019). Para P, apenas em 2019, foi lançado o primeiro inoculante no mercado nacional, denominado BiomaPhos, desenvolvido numa parceria da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) com a empresa Simbiose/Bioma-PR (Oliveira et al., 2020).

Nesse contexto, este capítulo abordará os principais mecanismos associados à BPCP ligados à fixação de N, à solubilização e mineralização de P, à promoção de crescimento e seus impactos na cana-de-açúcar e outras gramíneas, incluindo um panorama sobre os bioinoculantes recentemente lançados no mercado.

Fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar

O N é o nutriente mais limitante para o desenvolvimento da planta, podendo ser assimilado do solo na forma de amônio, nitrato e nitrito (Gopalakrishnan et al., 2017). Essas formas de N não são abundantes na maioria dos solos, sendo necessário o uso de fertilizantes químicos nitrogenados que são frequentemente perdidos por causa da chuva ou pela lixiviação (Pérez-Montaño et al., 2013; Santos et al., 2020b). Nesse contexto, o processo de fixação biológica de nitrogênio atmosférico destaca-se como uma tecnologia de base energética renovável e estratégica para o suprimento de N às plantas, incluindo os cereais e as gramíneas, que respondem pelo consumo da maior proporção de fertilizantes nitrogenados utilizados no globo.

A fixação biológica de N_2 (FBN) é um processo essencial para transformar o N_2 atmosférico em NH₃. Essa transformação é necessária porque o N_2 é uma molécula estável e abundante na atmosfera, que não pode ser utilizada pela

Tabela 11.1. Exemplos de inoculantes microbianos disponíveis no mercado brasileiro em 2020 para promoção de crescimento com foco em cana-de-açúcar e outras gramíneas.

Microrganismo	Nome do Produto	Empresa	Cultura	Função
Micorriza e Bacillus subtilis	No-Estio	Biogen	Milho	Tolerância à estresse hídrico
Bacillus amyloliquefaciens e Trichoderma virens	QuickRoots Technology	Acceleron	Milho	Fixação de nitrogênio e solubilização de fosfato e potássio
Azospirillum brasilense (Ab-V5 e Ab-V6)	Rizospirillum	Rizobacter	Milho	Fixação de nitrogênio
A. brasilense (Ab-V5 e Ab-V6)	Nodugram L	Nodusoja	Milho	Fixação de nitrogênio
A. brasilense (Ab-V5 e Ab-V6)	Azotrop	Biotrop	Milho, trigo, pastagens	Fixação de nitrogênio
A. brasilense (Ab-V5 e Ab-V6)	Bioma Maiz	Bioma	Milho	Fixação de nitrogênio
Azospirillum spp.	Nitragin Maíz	Monsanto BioAg	Milho	Fixação de nitrogênio
A. brasilense (Ab-V5 e Ab-V6)	Azp, Azp TF	Laboragro Inoculantes Agrícolas	Milho e trigo	Fixação de nitrogênio
A. brasilense	Masterfix Gramíneas	Stoller	Milho e arroz	Fixação de nitrogênio
A. brasilense	Nitro 1000	Nitro 1000	Arroz	Fixação de nitrogênio
Penicillium bilaiae	JumpStart Technology	Acceleron	Trigo	Solubilização de fosfato
A. brasilense cepa AZ 239	Nitragin Wave	Monsanto BioAg	Trigo	Fixação de nitrogênio
Nitrospirillum amazonense	Aprinza	Basf	Cana-de-açúcar	Fixação de nitrogênio e promoção de crescimento
B. subtilis e Bacillus megaterium	BiomaPhos	Bioma	Milho	Solubilização de fosfato e promoção de crescimento

Fonte: Embrapa (2020).

maioria dos microrganismos e pelas plantas nessa forma química. A FBN é um processo complexo, que requer a expressão de um conjunto de genes denominados genes *nif* (*nitrogen fixation*), os quais codificam proteínas envolvidas diretamente nesse processo, que, juntamente com outros genes estruturais, participam da ativação de proteínas de ferro e de uma série de proteínas regulatórias envolvidas na fixação de nitrogênio (Reed et al., 2011).

A reação de redução do N₂ a NH₃ é realizada por microrganismos que são chamados de fixadores de N ou diazotróficos. Essas microrganismos são classificados em dois grupos: microrganismos simbióticos e microrganismos de vida livre (Gopalakrishnan et al., 2017; Santos et al., 2020b). Grandes contribuições da FBN são observadas principalmente nas plantas da família das leguminosas, como soja e feijão, a partir de microrganismos simbióticos, como os rizóbios,

que formam nódulos nas raízes das plantas (Raza et al., 2020).

Entretanto, algumas plantas da família Poacea (antiga família Gramineae) têm também mostrado potencial para a FBN a partir da associação com microrganismos diazotróficos de vida livre. Bactérias de vida livre são capazes de interagir com as raízes, pois vivem próximas a ela na região rizosférica de modo que o nitrogênio fixado por essas bactérias possa ser facilmente absorvido pelas plantas. Além disso, as bactérias utilizam os exsudatos das raízes como fontes de carbono (aminoácidos, peptídeos, proteínas, enzimas, vitaminas e hormônios) (Tabassum et al., 2017; Santos et al., 2020b). Entre as bactérias fixadoras de N de vida livre estão as seguintes: Azotobacter, Paenibacillus, Burkholderia, Bacillus, Azospirillum e Herbaspirillum (Goswami et al., 2014; Santos et al., 2020b).

No caso específico da cultura da cana-de-açúcar cultivada no Brasil, há ganhos econômicos da ordem de 200 milhões de reais por ano, se for considerado que o processo de FBN contribui com cerca de 65% do N acumulado pela cultura (Reis et al., 2006, 2008). Ainda que se possam considerar esses ganhos apenas razoáveis quando comparados aos das leguminosas, a FBN tem papel fundamental no ambiente, principalmente pela redução da quantidade de nitrato acumulada nos corpos d'água, por causa da lixiviação do N aplicado por meio de fertilizantes químicos sintéticos.

Diferentes espécies de bactérias diazotróficas têm sido isoladas e descritas em cana-de-açúcar em diferentes solos e condições ambientais nos últimos 30 anos. Entre as bactérias associativas predominantes na rizosfera da cana-de-açúcar destacam-se os gêneros *Gluconacetobacter, Burkholderia, Beijerinckia, Azospirillum* e *Herbaspirillum* (Cavalcante; Döbereiner, 1988; Souza et al., 2016). Além de FBN, essas bactérias podem ser responsáveis por outros benefícios à

planta, tais como: produção de análogos aos hormônios vegetais, proliferação do sistema radicular, aumento da absorção de água e de nutrientes, solubilização de fosfatos inorgânicos, produção de sideróforos, além de poderem funcionar como agentes de controle biológico (Pii et al., 2015; Schlemper et al., 2018; Sousa et al., 2020).

Há evidências diretas e indiretas da ocorrência de FBN em cana-de-açúcar. Entre as evidências diretas está a identificação de um número considerável de bactérias com capacidade de fixar N₂ atmosférico associadas à cana (Sampaio et al., 1988; Urquiaga et al., 1992; Oliveira et al., 2002, 2006), cujas estimativas de contribuição são de, pelo menos, 40 a 100 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N obtidos a partir da FBN, usando plantas não inoculadas (Urquiaga et al., 2012; Baptista et al., 2014). Evidências indiretas vêm do fato de a cana-de-açúcar produzir, em cultivos contínuos no Brasil, grandes quantidades de colmos com adubações nitrogenadas relativamente modestas (Oliveira et al., 2004; Bordonal et al., 2018; Martins et al., 2020). As quantidades de N exportadas pelos colmos são semelhantes ou até menores do que as doses de N aplicadas ao longo do ciclo, sem contar que há perdas de N no sistema.

Contribuição da fixação biológica de nitrogênio à nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar

A contribuição da FBN à nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar é muito variada e está relacionada com estirpe, veículo de inoculação, genótipo da planta, altitude, temperatura, umidade e especialmente condições de fertilidade do solo e nível de N no solo (Oliveira et al., 2006; Schultz et al., 2017; Lopes et al., 2019). Apesar dessas variáveis, a seleção de estirpes eficientes adaptadas a diferentes condições climáticas pode reduzir as doses de fertilizantes nitrogenados sintéticos

aplicados no campo, deixando a cultura mais competitiva e ambientalmente mais sustentável (Lira et al., 2020). Nesse sentido, diferentes estudos têm mostrado que a seleção de estirpes eficientes na FBN é uma estratégia que pode aumentar a produtividade dessa cultura (Baldani; Baldani, 2005; Schultz et al., 2014, 2017).

Santos et al. (2017) usaram um consórcio de cinco estirpes (Gluconacetobacter diazotrophicus, Herbaspirillum seropedicae, Herbaspirillum rubrisubalbicans, Nitrospirillum amazonense e Paraburkholderia tropica) para inoculação de cana-de-açúcar. Os resultados mostraram que a inoculação, tanto na forma individual, quanto na mistura de duas ou mais estirpes, resultou em ganho de biomassa, aumento na absorção de nutrientes e modificações na arquitetura da raiz das duas cultivares de cana avaliadas, embora a magnitude dos efeitos tenha variado entre as estirpes e as cultivares. Foi observado também aumento de até 50% na massa seca da raiz seguindo à inoculação das plântulas na fase de germinação, com um aumento significativo no volume e na área da raiz, especialmente das raízes mais finas. Essas diferenças nas características radiculares podem ter influenciado positivamente a absorção de água pelas plântulas. No entanto, Martins et al. (2020) inocularam esse mesmo consórcio de cinco estirpes em duas cultivares de cana-de-açúcar e mostraram que as plantas-controle, mesmo sem inoculação, obtiveram mais de 65% de N a partir de FBN, o que indicou a presença de um grupo considerável e desconhecido de bactérias diazotróficas no microbioma das plantas. Concluíram também que a inoculação não resultou em aparente impacto na proporção de N derivado da FBN.

Confirmando o efeito de promoção de crescimento das plantas, foram identificados no estudo do microbioma de plantas de cana-de-açúcar gêneros de bactérias promotoras de crescimento já conhecidos, como *Azospirillum*,

Bacillus, Beijerinckia, Bradyrhizobium, Erwinia, Enterobacter, Herbaspirillum e Gluconoacetobacter (Souza et al., 2016). No entanto, houve o predomínio de outros grupos que não haviam sido estudados anteriormente, por exemplo, Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae Moraxellaceae, que juntos contribuem com mais de 50% da abundância relativa em colmos. Além desses grupos, as famílias Chitinophagaceae, Hyphomicrobiaceae, Rhizobiaceae, Sphingomonadaceae, Rhodospirillaceae (exceção de Azospirillum e Herbaspirillum), Sphingobacteriaceae e Sinobacteraceae foram também altamente abundantes, porém a sua caracterização quanto à promoção de crescimento e à contribuição para a FBN ainda não foi explorada. Esses resultados sugerem que o microbioma de diferentes partes da planta pode conter microrganismos que são abundantes e que possuem funções biológicas diferentes da FBN, sendo, no entanto, relevantes para o desenvolvimento da planta (Souza et al., 2016). Desse modo, esses dados podem ajudar a explicar a dificuldade em demonstrar o efeito benéfico da inoculação com um grupo conhecido de bactérias diazotróficas, uma vez que essas podem não ser abundantes o suficiente nos tecidos da planta para garantir o fornecimento de N. No entanto, essa enorme diversidade desconhecida pode ser um recurso biotecnológico importante para processos biológicos, tais como a FBN (Souza et al., 2016).

Outros autores também questionaram se é possível incrementar a contribuição da FBN pelo uso de bactérias selecionadas como inoculantes para a cultura da cana-de-açúcar. Diferentes estudos têm mostrado que, apesar da inoculação com bactérias isoladas ou com um consórcio de bactérias diazotróficas, não foi observada modificação na contribuição da FBN advinda da inoculação, dando evidências de que os benefícios do inoculante para a cana-de-açúcar podem ser provenientes do efeito da promoção de

crescimento de plantas (Schultz et al., 2014; Santos et al., 2017, 2019). Martins et al. (2020) utilizaram o mesmo consórcio de cinco estirpes utilizadas por Santos et al. (2017) para inocular duas cultivares de cana. Os resultados mostraram que essas cultivares foram capazes de obter elevadas contribuições de N a partir da FBN, mesmo sem inoculação. Os autores afirmam que, apesar das cultivares de cana obterem mais de 65% do N a partir de FBN, continua o desafio de identificar quais bactérias são responsáveis por esse efeito e como elas interagem com as plantas; e concluem que a inoculação teve pouco impacto na proporção de N derivado da FBN. Pereira et al. (2019) consideram que a inoculação dessa mistura bacteriana com a aplicação de uma dose baixa de N (50 kg ha⁻¹) pode aumentar a produtividade da cana com redução dos custos. A partir desses estudos, em 2019, o primeiro inoculante comercial para a cultura da cana foi registrado no Brasil (cepa N. amazonense) por uma equipe da Embrapa em parceria com a empresa Basf.

Bactérias de interações associativas na rizosfera e bactérias endofíticas de cana-de-açúcar

As bactérias diazotróficas e colonizadoras de rizosfera de plantas foram mais intensamente estudadas no Brasil nas décadas de 1950 e 1960 quando se iniciaram os estudos na área de FBN em gramíneas. Em 1955, foi feito o primeiro relato sobre a ocorrência em cana-de-açúcar de bactérias fixadoras de N do gênero *Beijerinckia*, o que levou à descrição da espécie denominada *Beijerinckia fluminensis* (Döbereiner; Ruschel, 1958). Estudos mais detalhados mostraram que a população de *Beijerinckia* era mais pronunciada na região denominada rizoplano (solo aderente à superfície das raízes) do que na rizosfera (Döbereiner, 1961). Nesse mesmo estudo, foi encontrada a bactéria *Beijerinckia* em 95% das

amostras de solo localizadas nessa região das raízes e 62% em amostras de solo retiradas das entrelinhas. A quantificação da FBN em cana indicava uma contribuição de até 50 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N (Döbereiner et al., 1973).

Pesquisas com as bactérias denominadas associativas foram intensificadas com o relato de que a bactéria Spirillum lipoferum era o principal microrganismo fixador de N associado às raízes da gramínea forrageira Digitaria decumbens (Döbereiner; Day, 1975). Com base nas características fisiológicas, bioquímicas e de homologia de DNA, foi criado o gênero denominado Azospirillum (Tarrand et al., 1978). Uma espécie de Azospirillum, denominada Azospirillum amazonense, foi descrita por Magalhães et al. (1983) e posteriormente reclassificada para N. amazonense (Lin et al., 2014). Sua distribuição ecológica foi confirmada por meio da avaliação da ocorrência em outras gramíneas, como a cana-de-açúcar, nas quais altas populações da bactéria foram detectadas (Baldani et al., 1999). Uma das suas principais diferenças para as outras espécies consiste na capacidade de usar sacarose como fonte de carbono e na intolerância ao meio alcalino (Magalhães et al., 1983).

Experimentos em vaso e em campo com ¹⁵N mostraram que 60-70% do N da planta de cana-de-açúcar podem ser provenientes da FBN, de acordo com o genótipo e as condições edafoclimáticas (Boddey; Döbereiner, 1995; Santos et al., 2017; Antunes et al., 2019). Como essas elevadas contribuições dificilmente poderiam ser atribuídas somente a bactérias da rizosfera, iniciaram-se, então, pesquisas de identificação de outras bactérias. No fim da década de 1980, verificou-se que havia bactérias endofíticas que colonizavam raízes, colmos e folhas no xilema e em espaços inter e intracelulares de algumas gramíneas, como, por exemplo, a cana-de-açúcar (Döbereiner, 1992). Essas bactérias são capazes de colonizar os vasos do xilema onde estão

sendo circundadas com películas provenientes da planta, lembrando os envelopes membranosos das leguminosas (Baldani; Döbereiner, 1999; Reis et al., 2011).

A primeira bactéria fixadora de N com características endofíticas foi isolada de solo da rizosfera, de raízes lavadas e raízes esterilizadas superficialmente de plantas de gramíneas e constituiu um novo gênero denominado Herbaspirillum, com a criação da espécie H. seropedicae (Baldani et al., 1986), que promove aumento significativo da matéria seca após inoculação em cana--de-açúcar (Marques Júnior et al., 2008). Nesta mesma década, foi verificado que um grupo de bactérias pertencentes à espécie Pseudomonas rubrisubalbicans, causador da doença denominada estria-mosqueada em cana-de-açúcar, apresentava características bastante semelhantes às do gênero Herbaspirillum (Döbereiner et al., 1990; Gillis et al., 1991). Estudos fisiológicos (Baldani et al., 1992) e moleculares foram realizados e culminaram na descrição da espécie H. rubrisubalbicans (Baldani et al., 1996). Essa espécie foi isolada de variedades de cana-de-açúcar sem apresentar sintomas da doença (Döbereiner et al., 1993) e tem sido utilizada na inoculação de cana-de-açúcar com efeito positivo significativo em várias características morfológicas e nutricionais (Lira et al., 2020).

A espécie *G. diazotrophicus* (Yamada et al.,1997) apresenta importantes características biotecnológicas, como promoção do crescimento vegetal, vias de metabolismo do açúcar, secreção de ácidos orgânicos e ocorrência de bacteriocinas (Bertalan et al., 2009). Várias outras espécies do gênero *Gluconacetobacter* foram descritas, incluindo *Gluconacetobacter* azotocaptans, *Gluconacetobacter* sacchari, *Gluconacetobacter* maltaceti e *Gluconacetobacter* johannae. Esta última foi uma homenagem à contribuição da pesquisadora Johanna Döbereiner para a área de FBN (Fuentes-Ramírez et al., 2001; Slapsak et al., 2013).

Colônias da bactéria endofítica G. diazotrophicus têm sido detectadas em raízes e colmos de diversas variedades de cana-de-açúcar em diferentes regiões canavieiras brasileiras (Döbereiner, 1992; Baldani et al., 2002; Chawla et al., 2014). Diferentes estudos mostraram que essa espécie produz compostos com capacidade antimicrobiana que inibe o crescimento de diversos fitopatógenos (Piñón et al., 2002; Nieto-Penalver et al., 2014). A inoculação de bactérias diazotróficas em cana, incluindo a G. diazotrophicus, contribuiu para a atenuação dos efeitos patogênicos em genótipos diferencialmente sensíveis ao raquitismo de soqueira (Carneiro Júnior, 2006). Efeitos antagônicos de G. diazotrophicus contra o fungo Colletrotichum falcatum, causador da podridão-vermelha em cana, foram demonstrados quando ambos foram cultivados juntos no meio de cultura (Muthukumarasamy et al., 2000). Estudos similares também mostraram efeitos antagônicos de G. diazotrophicus contra diversas outras espécies de fungos fitopatogênicos tanto em experimentos conduzidos in vitro quanto em casa de vegetação (Mehnaz; Lazarovits, 2006; Pellegrini et al., 2020).

Aumento da aquisição de P por microrganismos solubilizadores de fosfato

Observa-se frequentemente uma baixa concentração de P disponível para as plantas em solos altamente intemperizados e ácidos. Esse fato pode ser atribuído à adsorção de fosfato por minerais como óxidos de ferro e alumínio nos solos argilosos tropicais, e por cálcio, principalmente em solos de clima temperado (López-Arredondo et al., 2014), reduzindo assim sua absorção pelas plantas. Os níveis de P também são baixos nos solos muito arenosos por causa da baixa capacidade de adsorção do nutriente que, consequentemente, fica suscetível à lixiviação

(Sims et al., 1998). A fração inorgânica de fosfato mais abundante nos solos tropicais é o fosfato de ferro (Fe-P), seguido pelo fosfato de alumínio (Al-P) e fosfato de cálcio (Ca-P), que são formas pouco disponíveis para as plantas (Shaw, 2001). Adicionalmente, cerca de 80% do P total em áreas agrícolas de plantio direto estabelecido ou rotação de culturas está na forma orgânica, que também não é diretamente acessível às plantas (Novais; Smyth, 1999). Para agravar a situação, o P é derivado de reservas sedimentares ou magmáticas que não são renováveis (Blackwell et al., 2019). Por sua vez, a aplicação excessiva de fertilizantes fosfatados levanta questões importantes sobre sustentabilidade, uma vez que pode contribuir para o processo de poluição do solo, contaminação da água pela eutrofização de rios e mananciais e do ar, pela emissão de gases tóxicos no seu processo de fabricação que consome combustíveis fósseis (Withers et al., 2018).

Os fertilizantes fosfatados correspondem a 23% do montante importado de fertilizantes no País, o que significa 5,6 milhões de toneladas (Globalfert, 2019). A necessidade de aplicação de altas doses de fertilizantes para atender à demanda das culturas se traduz em maior dependência externa, já que mais de 50% dos fertilizantes fosfatados são importados.

Estudo realizado pela Embrapa e parceiros mostra que, nos últimos 50 anos, quase metade do P aplicado na agricultura na forma de fertilizante inorgânico continua no solo, constituindo uma reserva de mais de US\$ 40 bilhões, o que pode ajudar o Brasil a se precaver contra uma possível escassez futura do nutriente. Ao aprendermos a manejar e reciclar esse nutriente de forma mais eficiente, essa imensa reserva poderá ser mobilizada em favor da agricultura brasileira (Withers et al., 2018). Em geral, o estoque de P inorgânico nos solos está em aproximadamente 57%, enquanto o de P orgânico, na forma de monoéster, em cerca de 33%, o que indica alto potencial

para o uso agronômico desse total acumulado (Menezes-Blackburn et al., 2018).

A atividade microbiana está intimamente relacionada com a ciclagem de nutrientes no solo (Gadd, 1999), e, ao longo do cultivo, a disponibilidade de P pode ser aumentada pela contribuição da microbiota do solo ou pelo uso dos inoculantes microbianos (Mendes et al., 2014; Ribeiro et al., 2018; Sousa et al., 2020; Oliveira et al., 2020). Em geral, um grama de solo fértil contém 10¹ a 10¹º bactérias, e seu peso vivo pode exceder 2 mil quilogramas por hectare (Khan et al., 2009).

Microrganismos solubilizadores de fosfato (MSP) são conhecidos por aumentar a disponibilidade de P para as plantas a partir da síntese de compostos químicos eficientes na solubilização de fosfatos insolúveis presentes no solo. Entre toda a população microbiana do solo, bactérias solubilizadoras de P normalmente compreendem entre 1 e 50%, enquanto os fungos entre 0,1 e 0,5% de população total (Chen et al., 2006), com destaque para bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* e *Burkholderia*, além de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (Oliveira et al., 2009; Gomes et al., 2014; Etesami; Maheshwari, 2018; Kalayu, 2019).

O principal mecanismo de solubilização de P por microrganismos consiste na produção de ácidos orgânicos ou liberação de prótons (Satyaprakash et al., 2017; Abreu et al., 2017; Kumar et al., 2018; Kalayu, 2019). Ácidos orgânicos e inorgânicos produzidos por MSP dissolvem os fosfatos insolúveis do solo por quelação de cátions e competem com o fosfato por sítios de adsorção no solo (Khan et al., 2009). Os grupos hidroxila e carboxila dos ácidos quelam os cátions ligados ao fosfato, convertendo-os assim em formas solúveis.

As formas orgânicas do P no solo, como ácidos nucleicos, fosfolipídios, fosfatos de açúcar, ácido fítico, polifosfatos e fosfonatos, não estão disponíveis para as plantas e precisam ser mineralizadas por meio da decomposição da

matéria orgânica por microrganismos (Khan et al., 2009). Essa mineralização ocorre pela produção de fosfatases ou fosfohidrolases, como a fitase (Satyaprakash et al., 2017; Menezes-Backburn et al., 2018; Kumar et al., 2018), que compreendem um amplo grupo de enzimas que catalisam a hidrólise das ligações fosfomonoéster, liberando assim o P inorgânico que será absorvido pelas plantas (Tapia-Torres et al., 2016; Menezes-Blackburn et al., 2018).

Uma estratégia promissora tanto em termos ambientais quanto econômicos é o uso combinado de fosfatos de rocha (baixa solubilidade) e MSP (Khan et al., 2007; Richardson et al., 2009; Gomes et al., 2014; Almeida et al., 2016), que pode aumentar a biomassa e/ou a produtividade em diferentes gramíneas, como trigo (Singh; Reddy, 2011; Emami et al., 2019), milheto (Ribeiro et al., 2018), milho (Kaur; Reddy, 2015) e sorgo (Mattos et al., 2020). Diferentemente dos fertilizantes fosfatados sintéticos, os fosfatos naturais representam fontes de P insolúveis em água, apresentando, portanto, menor eficiência na disponibilização de P no solo em curto prazo (Korndörfer, 1999). No entanto, por causa do processo oneroso envolvido na produção industrial de fontes solúveis de P, a utilização de fosfatos naturais tem se tornado uma alternativa atrativa pelo baixo custo do produto, apesar de apresentarem menor eficiência agronômica. No entanto, a magnitude da resposta da combinação de fosfato natural com MSP normalmente depende de vários fatores, principalmente das estirpes dos microrganismos, das formulações, da fonte de P e/ou do tipo de solo, do genótipo da planta, além das condições ambientais (Mattos et al., 2020).

Microrganismos solubilizadores de fosfato em gramíneas

A etapa inicial do desenvolvimento de inoculante que contenha MSP consiste em isolamento, seleção, identificação e avaliação dos microrganismos com potencial para solubilização de fontes de fosfato insolúvel em condições de laboratório. A maioria dos MSP é isolada da rizosfera ou do interior das plantas (endofíticos), onde eles são conhecidos por serem metabolicamente mais ativos (Khan et al., 2009; Walpola; Yoon, 2012; Selvi et al., 2017). Cepas isoladas da rizosfera de genótipos de milho eficientes no uso de P mostraram-se eficientes na solubilização de fontes inorgânicas de P, com disponibilização de até 67% do P total in vitro (Oliveira et al., 2009), demonstrando assim uso potencial como bioinoculante. Outras características, como a taxa de sobrevivência, adaptação e multiplicação dos microrganismos na rizosfera (competência rizosférica) e a capacidade de colonização e infecção das plantas hospedeiras (competência endofítica), devem ser avaliadas em testes de casa de vegetação e de campo (Sathya et al., 2016).

Resultados promissores têm sido observados em diferentes culturas. A inoculação de MSP em milho promoveu o aumento do crescimento das plantas e a absorção de nutrientes em condições de casa de vegetação e de campo (Kumar et al., 2007; Hameeda et al., 2008; Sousa et al., 2020). A maioria desses microrganismos promoveu efeitos significativamente positivos sobre rendimentos de grãos, peso seco total e conteúdo de P em plantas de milho. Em condições de campo, a inoculação de sementes de milho com Penicillium oxalicum em associação com o uso de fosfatos de rocha proporcionou aumento significativo do crescimento, da produção e do teor de P nas plantas (Singh; Reddy, 2011). Efeitos positivos também foram evidenciados em plantas de milho por meio de estirpes bacterianas solubilizadoras de fosfato dos gêneros Serratia e Pseudomonas, que promoveram aumento do crescimento, acúmulo de P e produtividade de até 85%, em comparação com o controle não inoculado (Hameeda et al., 2008). Em condições controladas, a inoculação do milho com MSP e a adubação com fosfatos de rochas

proporcionaram aumento do comprimento e da massa seca de raiz de 11 e 35%, respectivamente (Manzoor et al., 2017), além do aumento do conteúdo interno de P na planta de maneira proporcional ao ganho de massa seca (Oliveira et al., 2013; Sousa et al., 2020). Adicionalmente, trabalhos com milheto demonstraram ganho de massa seca de raiz e maior acúmulo de P com a inoculação de cepas-elites de *Bacillus* isoladas pela Embrapa (Oliveira et al., 2013; Ribeiro et al., 2018).

O uso de microrganismos em conjunto com fertilizantes organominerais (fosfato de rocha, minerais e componente orgânico) também tem sido indicado em milho. Resultados de estudos da equipe de microbiologia do solo da Embrapa Milho e Sorgo indicaram produtividades similares entre os tratamentos de milho adubados com superfosfato triplo e com fertilizante organomineral pulverizado com MSP no sulco de plantio. Foi também observado um aumento do teor de P na parte aérea das plantas de milho e no solo em tratamentos que receberam a inoculação com MSP (Sousa et al., 2020). Amanullah e Khan (2015) observaram influência de bactérias solubilizadores de P na produção do milho adubado com composto orgânico e P nas doses de 75 e 100 kg ha⁻¹ do organomineral. Os autores indicaram que doses mais altas de P, juntamente com MSP, aumentaram a disponibilidade e a absorção desse nutriente, o que resultou em aumento da produtividade do milho. Almeida et al. (2016) observaram efeito significativo da inoculação com MSP na produção de massa seca da parte aérea do milheto adubado com fontes organominerais. Os autores observaram também que a inoculação no plantio foi mais eficiente que a realizada 60 dias antes do plantio e citam que esse resultado pode estar relacionado com uma melhor sobrevivência dos microrganismos solubilizadores, quando aplicados sobre a fonte organomineral.

Atualmente, para culturas de grãos, já existem, no mercado de países como Canadá, Austrália, Egito e Índia, produtos fertilizantes obtidos a partir da mistura de fosfato de rocha, MSP e uma fonte de carbono, como resíduos de cana, mandioca, entre outros, os quais têm sido usados extensivamente na agricultura desses países com resultados positivos (Khalil et al., 2002).

Em trigo, a inoculação de MSP dos gêneros Azotobacter e Bacillus em condições de campo aumentou o rendimento de grãos em até 30 e 43%, respectivamente (Kloepper et al., 1992). Da mesma forma, um aumento de rendimento de 10 a 20% foi relatado em testes de campo usando uma combinação de Bacillus megaterium e Azotobacter chroococcum (Rodriquez; Fraga, 1999). A inoculação de trigo com diferentes espécies de Pseudomonas e Bacillus também aumentou a absorção de P e o rendimento de grãos (Walpola; Yoon, 2012). Recentemente, a inoculação com MSP do gênero Paenibacillus promoveu aumento significativo do P disponível no solo e da absorção de P pelas plantas, além de estimular consideravelmente a fixação biológica de N na rizosfera e na endosfera de plântulas de trigo (Li et al., 2020).

Em sorgo, a inoculação tanto com *Bacillus simplex* quanto com *Pseudomonas* promoveu aumento significativo da matéria seca e absorção de P (Rezakhani et al., 2020). Nessa mesma cultura, a inoculação com bactérias do gênero *Bacillus* aumentou significativamente a biomassa da raiz e o teor de P em experimentos em casa de vegetação, bem como a produtividade e o teor de P nos grãos em condições de campo (Mattos et al., 2020).

Em cevada, a inoculação de MSP da bactéria *Mesorhizobium mediterraneum* em solos tratados com fosfatos insolúveis aumentou em 100% o teor de P no solo, promovendo acréscimo significativo do teor de nutrientes e matéria seca (Peix et al., 2001). Plantas de cevada inoculadas com *Streptomyces roseocinereus* também aumentaram significativamente o comprimento

da parte aérea e da espiga, bem como o P disponível nas espigas e folhas (Chouyia et al., 2020).

A capacidade de solubilização de fosfato por microrganismos do solo é conhecida por influenciar positivamente também a produção de arroz (Sutaliya; Singh, 2005; Asuming-Brempong, 2013). A inoculação de *Trichoderma* aumentou significativamente a solubilização do fosfato de rocha e consequentemente a absorção de P pelas plantas de arroz (Chagas et al., 2015). Ainda em arroz, a inoculação com cepa de *Pantoea* aumentou a altura da planta, a biomassa, o crescimento da raiz e a absorção de P (Chen; Liu, 2019).

Em alguns casos, as mesmas cepas de MSP foram testadas em diferentes gramíneas. Isolados de Azospirillum promoveram maior produtividade em milho, sorgo e trigo, enquanto a inoculação com isolados de Bacillus resultou em maior rendimento em sorgo e trigo (Rodriguez; Fraga, 1999). Vários MSP também têm sido utilizados em interação com fungos micorrízicos com efeitos positivos sobre o crescimento das plantas, confirmando o potencial do uso de consórcios microbianos para a produção de bioinoculantes. A inoculação em trigo de diferentes espécies de bactérias solubilizadoras de fosfato combinadas com fungos micorrízicos arbusculares levou ao aumento na produção de matéria seca da parte aérea, no número de espigas e na produtividade de grãos de trigo (Yousefi et al., 2011).

Microrganismos solubilizadores de P em cana-de-açúcar

O P é um nutriente crítico para o desenvolvimento da cana-de-açúcar uma vez que desempenha papel essencial no desenvolvimento do sistema radicular e no perfilhamento, além de influenciar a atividade fotossintética, a longevidade e a produtividade da planta (Kingston, 2014; Santos et al., 2020a). Adicionalmente, sua influência na produção e na qualidade do

caldo tem sido bem estabelecida, tornando a aplicação de P parte importante dos programas de fertilização da cana. No entanto, apenas 10 a 30% do fertilizante fosfatado aplicado no primeiro ano de cultivo são absorvidos pelas raízes da cana, enquanto o restante acumula nos solos, como P fixado em argilas e cátions como cálcio (Ca), alumínio (Al) e ferro (Fe), uma forma não disponível para as plantas (Kingston, 2014). Assim, os solos apresentam grandes reservas de P que poderiam suportar os requerimentos das culturas por longo prazo se mobilizado pelo manejo adequado do solo, envolvendo adição de matéria orgânica e/ou uso de alternativas como os MSP.

Bactérias que colonizam as raízes exercendo efeitos positivos tais como fixação de nitrogênio e produção de hormônios têm sido bastante estudadas em cana-de-açúcar (Boddey et al., 2003; Caballero-Mellado, 2004; Perin et al., 2006). No entanto, apesar da importância comercial dessa cultura, o conhecimento da comunidade microbiana solubilizadora de P associada a ela ainda é escasso, existindo limitada informação sobre o papel das espécies microbianas no crescimento, desenvolvimento e desempenho da planta. Nesse sentido, o conhecimento das populações microbianas que ocorrem naturalmente na rizosfera ou colonizam tecidos internos das plantas (endofíticos) é uma etapa importante no isolamento, na caracterização e na seleção de microrganismos benéficos para produção de inoculantes microbianos para a cana-de-açúcar.

Entre os grupos de bactérias predominantes nas raízes da cana, destacam-se as *Proteobacterias*, cujos membros promovem o crescimento das plantas por mecanismos diversos, contribuindo com mais de 40% da população total, seguidas por *Acidobacteria* e *Actinobacteria* (Gao et al., 2019). Estudos que comparam plantas em diferentes estágios de desenvolvimento mostraram que a população microbiana predominante na

cana-soca, após 3 anos de cultivo, foi o grupo de Acidobacterias, enquanto as Actinobacterias apresentaram maior abundância na cana recém-plantada. Acidobacteria, que é um filo amplamente distribuído na rizosfera, pode atuar na degradação de polissacarídeos, portanto apresenta papel importante no ciclo do carbono. Por sua vez, sabe-se que as Actinobacterias desempenham papel na regulação das interações biológicas entre plantas, patógenos e o ambiente (Gao et al., 2019). Outros autores descreveram outros grupos de bactérias predominantes em cana, como os gêneros Beijerinckia, Gluconacetobacter, Herbaspirillum, Burkholderia, Azospirillum, Pantoea, Pseudomonas e Microbacterium, enquanto os principais grupos de fungos que ocorrem naturalmente associados às raízes ou no interior das plantas de cana são os seguintes: Epicoccum, Trichoderma e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Romão-Dumaresq et al., 2017).

Com o objetivo de ampliar o número de microrganismos isolados de plantas de cana, Armanhi et al. (2018) adicionaram caldo de cana estéril ao meio de cultura, o que favoreceu o cultivo de gêneros como Pseudomonas, Flavobacterium, Agrobacterium e Enterobacter, os quais são adaptados a açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos e pequenas moléculas e respondem bem aos exsudatos na rizosfera da cana. A partir desses microrganismos selecionados em meio de cultura e do microbioma obtido independentemente de cultivo, foram criadas comunidades sintéticas formadas pelos microrganismos mais abundantes das raízes e dos colmos das plantas de cana (Armanhi et al., 2018). Os autores usaram essa comunidade sintética como inoculante de plântulas de milho e observaram que os microrganismos colonizaram as plantas inoculadas substituindo parcialmente a microbiota original e contribuindo com, aproximadamente, 54 e 49% da abundância relativa total de microrganismos rizosféricos e endofíticos da raiz,

respectivamente. Como resultado, as plantas inoculadas aumentaram 3,4 vezes a biomassa fresca quando comparadas com plantas não inoculadas, além de diferenças observadas no peso seco das plantas. Adicionalmente, as plantas inoculadas foram mais vigorosas, com folhas verde-escuras, que apresentavam sistemas radiculares mais ramificados com maior número de raízes laterais (Armanhi et al., 2018).

Um estudo recente avaliou o efeito da inoculação das bactérias Azospirillum brasilense, Bacillus subtilis e Pseudomonas fluorescens no desempenho da cana-de-açúcar ao final do ciclo (Rosa et al., 2020). O experimento foi conduzido em um solo com baixo P disponível. Foram aplicados os inoculantes separadamente ou em conjunto e cinco doses de P na forma de superfosfato triplo. A inoculação bacteriana com B. subtilis + P. fluorescens resultou em aumento na concentração de P na folha da cana. A combinação de A. brasilense + B. subtilis com aplicação de 45 kg ha⁻¹ de P₂O₅ foi o melhor tratamento, resultando em aumento da massa seca, acúmulo de P e aumento na produção do colmo em 38% em uma variedade de cana, reduzindo a fertilização de P em 75% para a mesma variedade cultivada em solo com baixo P. Além disso, a combinação A. brasilense + B. subtilis resultou em aumento do P disponível na camada superficial do solo depois da colheita em mais de quatro vezes, em comparação com os tratamentos não inoculados, o que indica que essa mistura de bactérias solubilizou parte do P do solo, disponibilizando seu uso para as plantas.

Alguns estudos têm avaliado o efeito da aplicação de fontes menos solúveis de P, como os fosfatos de rocha, em conjunto com inoculação com MSP. Nesse sentido, a inoculação com B. megaterium var. Phosphaticum foi avaliada no crescimento e na produção da cana-de-açúcar com e sem a adição de fosfato de rocha (Sundara et al., 2002). Foi observado que a inoculação

da bactéria aumentou o teor de P disponível para as plantas no solo. Observou-se também um aumento do perfilhamento, do peso do colmo e da produção em 12,6%. Adicionalmente, 50% do fertilizante solúvel fosfatado pode ser substituído pelo fosfato de rocha, uma fonte de P de menor custo quando aplicado em conjunto com MSP. A inoculação também melhorou a qualidade do caldo da cana, em termos de pureza e teor de açúcares.

O uso de diferentes fontes de fosfato de rocha e as interações na comunidade microbiana do solo com/sem inoculação de FMA também foram investigados (Gumiere et al., 2019). As fontes de fosfato avaliadas foram superfosfato simples, fosfato de rocha Catalão e fosfato de rocha Bayóvar. Os resultados indicaram que o uso da fonte Bayóvar resultou em maior teor de matéria seca total da cana-de-açúcar em ambos os tratamentos com ou sem inoculação com FMA. No entanto, uma redução da matéria seca total foi observada quando a fonte de P foi o superfosfato simples com a inoculação com FMA. Esse efeito negativo da colonização com FMA junto com fosfato solúvel pode estar relacionado ao custo líquido de carbono para manutenção e crescimento dos fungos, que excedeu os benefícios líquidos obtidos pela planta hospedeira com alto fornecimento de nutrientes. Esses resultados não apenas confirmam o efeito negativo da acidulação de fertilizantes fosfatados solúveis na colonização de FMA, mas também indicam efeito de antagonismo entre fonte e inóculo, resultando em uma redução na massa seca total. Adicionalmente, a fonte de fosfato afetou a matéria seca total e a estrutura das comunidades microbianas do solo. As interações bacterianas aumentaram nas fontes com alta porcentagem de P₂O₅, enquanto as interações com fungos diminuíram.

Outra abordagem que utiliza enxofre inoculado com a bactéria *Acidithiobacillus* tem mostrado

resultados satisfatórios na disponibilidade de P a partir de fosfatos de rocha em solos ácidos brasileiros para diferentes culturas, incluindo a cana--de-açúcar. Isso ocorre porque, para a produção de fertilizantes fosfatados, ácidos fortes como ácido sulfúrico, fosfórico ou nítrico são adicionados para promover a solubilização das rochas, processo que requer alto consumo de energia (Straaten, 2002). No caso do experimento com Acidithiobacillus, a solubilização do fosfato de rocha ocorre pela produção de ácido sulfúrico pelas bactérias, evitando-se a aplicação de ácidos fortes na produção dos fertilizantes solúveis. Embora muitas dessas bactérias que oxidam enxofre ocorram naturalmente nos solos, as espécies mais importantes não são abundantes nos solos agrícolas, por isso é necessária a sua inoculação para produzir os efeitos desejados (Stamford et al., 2008). Por exemplo, um estudo avaliou a produção de biofertilizantes que utilizavam fosfato de rocha mineral (apatita) adicionado de biotita rica em potássio, além de enxofre inoculado com a bactéria Acidithiobacillus, e comparou a eficiência desse biofertilizante com fertilizantes solúveis na produção de cana (Stamford et al., 2006). Os biofertilizantes foram produzidos em sulcos onde as rochas, apatita ou biotita, são misturadas com enxofre elementar inoculado com Acidithiobacillus. Os resultados indicaram um aumento da massa fresca do colmo com a aplicação dos biofertilizantes e dos fertilizantes solúveis. Houve um aumento significativo dos conteúdos de N, P e K na matéria seca do colmo quando os biofertilizantes foram aplicados, indicando seu potencial uso como fonte de nutrientes para a cultura. Em outro estudo, duas variedades de cana-de-açúcar, três fontes de P (apatita, apatita misturada com Acidithiobacillus e superfosfato triplo) e três fontes de K (biotita, biotita misturada com Acidithiobacillus e KCl) foram aplicadas em um experimento de campo. Foi observada uma redução significante no pH do solo, seguida de um aumento do P, K, Ca e magnésio (Mg) no solo com a

adição dos biofertilizantes em comparação com os fertilizantes sintéticos solúveis. Os autores concluíram que os biofertilizantes apresentam potencial uso como fonte de nutrientes para a cultura, mas que a redução do pH do solo precisa ser mais bem investigada (Stamford et al., 2008).

Comercialização e desafios da produção de bioinoculantes que contêm microrganismos solubilizadores de fosfato

Diversos estudos têm demonstrado que o uso de inoculantes comerciais que contêm MSP aumenta significativamente o P disponível e a absorção desse nutriente pelas plantas (Irshad et al., 2012). Essa capacidade foi comprovada inicialmente em vários estudos de validação em escala de bancada (Nahas et al., 1990; Richardson et al., 2009; Oliveira et al., 2009) que propiciaram o desenvolvimento de programas de inoculação de MSP, com resultados favoráveis em vários países, visando ao aumento da disponibilidade do P (Owen et al., 2015). Entre estes produtos pioneiros, podemos citar o Jumpstar (Khalil et al., 2002), formulado à base de Penicillium bilai, proveniente do Canadá, Bio-Phospho, Bio Promotor Phosphobacteria, Potash solubilizing liquid e Biozote-P, formulados à base de Bacillus e outros MSP, principalmente na Índia e no Paquistão (Tabassum et al., 2017).

No entanto, o sucesso comercial de um produto baseado em microrganismos promotores de crescimento, como os MSP, requer demanda de mercado viável e econômica, consistente e amplo espectro de ação, segurança e estabilidade, baixo custo e disponibilidade de adjuvantes, marketing de produtos que contêm bioinoculantes e interação entre pesquisa e indústria. Prosseguir com sucesso, do laboratório à escala industrial, seguido de seu uso no campo, é um dos principais desafios atuais para o uso dos bioprodutos. Nem sempre os resultados promissores obtidos em bancadas são reproduzidos no campo, em razão da alta complexidade das interações inoculante-planta e inoculante--microbiota do solo.

Como parte do futuro dos bioinoculantes, a pesquisa deve se concentrar na otimização das condições de crescimento e no aumento da vida útil da formulação com microrganismos, na ausência de fitotoxicidade para as plantas, no aumento da tolerância a condições ambientais severas, no aumento da produção de safras e na rentabilidade para os agricultores (Tabassum et al., 2017). A maioria dessas condições é observada em produtos à base de *Bacillus*, que apresentam grande potencial para serem utilizados em sistemas integrados de produção agrícola, o que justifica a seleção e a caracterização de novas cepas.

Numerosas espécies do gênero Bacillus sp. são conhecidas por aumentar a solubilização de fosfatos e facilitar sua mobilização no solo. Bacillus é um dos principais microrganismos envolvidos na geração de produtos biotecnológicos para a agricultura, representando o grupo mais importante para uso no controle biológico na forma de inseticidas, fungicidas, bactericidas, nematicidas, bem como estimulantes de tolerância ao estresse e promotores do crescimento vegetal. Entre os agentes de biocontrole bacteriano, as espécies de Bacillus respondem por mais de 50% dos produtos comercializados, e Bacillus thuringiensis contribui com mais de 70% desse mercado (Ongena; Jacques, 2008). Isso se deve às diferentes propriedades desse grupo de bactérias, incluindo a capacidade de formar endósporos, permitindo que se adaptem a condições abióticas extremas, como temperatura, pH, radiação, dessecação, luz ultravioleta ou exposição a pesticidas (Bahadir et al., 2018). Além disso, os endósporos permitem maior resistência

dos produtos de estoque, aumentando a vida útil dos produtos à base de *Bacillus*.

BiomaPhos – exemplo de um caso de sucesso

Levando em consideração tudo isso, a equipe de microbiologia da Embrapa Milho e Sorgo vem pesquisando e selecionando, há quase 20 anos, microrganismos solubilizadores de diversos tipos de fosfatos com foco no gênero Bacillus. Resultados desses anos de pesquisa culminaram no desenvolvimento do produto BiomaPhos (Oliveira et al., 2009, 2020; Gomes et al., 2014; Abreu et al., 2017; Ribeiro et al., 2018; Sousa et al., 2020), que contém as cepas B. subtilis (CNPMS B2084) e B. megaterium (CNPMS B119). Esse produto foi lançado em 2019, pela Embrapa Milho e Sorgo, em parceria com a empresa Bioma¹, que o registrou no Ministério da Agricultura e Pecuária (Mapa) e iniciou, no Brasil, a comercialização do BiomaPhos como inoculante para solubilização de fosfato. Em 2021, a Bioma obteve o registro do produto BiomaPhos Soja, com validação agronômica para essa cultura. Em mais um avanço, também no ano de 2021, foi obtido registro do BiomaPHOS que continha as cepas de Bacillus com a expansão de uso no Mapa para a cultura da cana-de-açúcar, cujo nome de comercial é SolubPhos Cana.

Trata-se de um inoculante líquido recomendado para o tratamento de sementes ou para aplicação no sulco de semeadura. O mecanismo de ação do produto consiste no fato de que as bactérias presentes se associam à planta desde o início da formação da raiz. Com isso, elas se multiplicam e colonizam a rizosfera da planta, além de produzirem ácidos orgânicos que solubilizam o P presente na porção do solo em contato com as raízes da planta (rizosfera), tornando-o prontamente disponível para a absorção e

Para que fossem selecionadas cepas de MSP adaptadas às condições agrícolas do País e houvesse sucesso no estabelecimento dessas cepas em lavouras comerciais, inicialmente foram isolados cerca de 300 microrganismos de solo rizosférico de milho (em cinco regiões agrícolas no Brasil) predominantemente cultivado em sucessão com soja e feijão (Oliveira et al., 2009). Posteriormente, cerca de 150 microrganismos endofíticos foram isolados da raiz, do colmo e da folha de milho, também provenientes de amostras de várias regiões agrícolas do País (Abreu et al., 2017; Ribeiro et al., 2018).

Durante as várias etapas de seleção em escala de bancada, foram constatadas outras características de promoção de crescimento, como a capacidade de produzir ácido indol-acético (AIA), formar biofilme, produzir sideróforos, exopolissacarídeos, enzimas fosfatases e fitases, bem como a capacidade de confirmar o potencial de solubilização de diversos tipos de fosfatos, como os fosfatos de rocha e de ferro, além de mineralizar P orgânico.

Concomitantemente, foram realizados estudos de validação com plantas de milheto em solo adubado com fosfato convencional e fosfato de rocha Araxá e Itafós, em condições controladas. Nesses estudos, a inoculação das cepas CNPMS B2084 e CNPMS B119 separadamente promoveu ganho de biomassa de parte aérea e raiz e acúmulo de P, entre outros nutrientes, nos tecidos (Oliveira et al., 2013; Ribeiro et al., 2018). Quando inoculadas em plântulas de milho cultivadas em sistema hidropônico, as mesmas cepas estimularam incremento de área de superfície do sistema radicular, massa seca, acúmulo de nutrientes e aumento de raízes mais finas (Sousa et al., 2020),

assimilação da cultura. Além disso, o BiomaPhos atua na mineralização do P presente na matéria orgânica do solo (fitato) e contribui para o suprimento de P às plantas.

¹ Disponível em: www.bioma.ind.br

além do indicativo de tolerância ao estresse hídrico induzido (Velloso et al., 2020).

Em condições de campo, os resultados mostraram que quando o milho foi inoculado com as cepas CNPMS B2084 e CNPMS B119, houve incremento significativo de 12% na produção, enquanto a inoculação com a cepa CNPMS B119 melhorou o acúmulo de P do grão em 21%, em comparação com o controle não inoculado. Além disso, as plantas inoculadas com essas cepas mostraram um aumento em torno de 24% no teor de P nos grãos, em comparação com o controle não inoculado (Oliveira et al., 2020; Sousa et al., 2020).

Em termos de ganhos em sacas de milho, os resultados de campo em quatro safras agrícolas e dois locais, em experimentos conduzidos pela Embrapa Milho e Sorgo, também apontam que é possível um aumento médio superior a 7 sacas por hectare por meio da combinação do inoculante contendo MSP e uma proporção adequada de fertilizantes fosfatados (Oliveira et al., 2020). Em uma dessas avaliações, após 3 anos de cultivo no estado de Goiás, esse ganho chegou a 16,5 sacas por hectare com a inoculação da cepa CNPMS B2084 em área de solo com fertilidade construída e sem adição do adubo fosfatado. Na área que recebeu adubação com o superfosfato triplo, onde ocorreu a inoculação da cepa CNPMS B119, o ganho foi de 34,5 sacas em relação ao tratamento controle, sem inoculação (Sousa et al., 2020).

O aumento do acúmulo de P nos grãos também foi positivo com a inoculação da cepa CNPMS B119 em diferentes anos agrícolas. Esses resultados em conjunto demonstram o potencial dessas cepas de aumentar a produção e proporcionar maior teor de P nos grãos. Tudo isso possivelmente está associado à maior aquisição desse elemento nos estágios iniciais de crescimento, pelo aumento do sistema radicular e pela ação de solubilização localizada na rizosfera, proporcionando maior eficiência de absorção do adubo fosfatado e de for-

mas não disponíveis desse elemento na rizosfera (Oliveira et al., 2020; Sousa et al., 2020). A aquisição de P (acúmulo na planta) tem sido relatada como mais importante que o teor de P disponível no solo para o crescimento das raízes e o rendimento de grãos (Mahanta et al., 2018).

Nas avaliações finais de validação, nas quais foi utilizada a formulação do inoculante comercial BiomaPhos com as duas cepas em mistura, destacaram-se os resultados dos ensaios realizados em Palotina, PR, e em Santa Maria, RS, onde ocorreram ganhos de 16 e 17 sacas a mais de milho em relação ao controle não inoculado, respectivamente (Oliveira et al., 2020). A inoculação do BiomaPhos levou ao aumento significativo da produtividade de grãos em milho (ganho médio de 8,9%) nos seguintes estados: Paraná, Bahia, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás (Oliveira et al., 2020). Em geral, os testes foram realizados em lavouras de produtores nessas cinco regiões no País, em áreas de, no mínimo, 20 ha, com e sem a inoculação do BiomaPhos, e as adubações com P foram aplicadas conforme recomendação local.

Desde o lançamento do inoculante BiomaPhos, resultados positivos vêm sendo relatados pelos produtores em todo o Brasil. Em 2019, foi utilizado em cerca de 350 mil hectares de milho e de soja, principalmente, e na safra 2020/2021 em 1,5 milhão de hectares. Atualmente, o inoculante já foi avaliado em mais de 500 áreas comerciais de 15 estados em lavoura de milho e de soja e encontra-se em expansão de uso com novos registros para outras culturas, incluindo a cana-de-açúcar. Nessas regiões avaliadas, os ganhos médios, considerando safra e safrinha de 2019/2020, estão em torno de 11 sacas por hectare para milho e 5 sacas por hectare para soja. A análise de numerosos experimentos realizados pela empresa parceira e o relato de produtores têm mostrado que os ganhos de produtividade com a aplicação do inoculante variam conforme os locais e tipos de solo. Além disso, o acesso às reservas de P no solo e a redução da adubação fosfatada com o uso do inoculante necessitam ser avaliados com critério para o melhor posicionamento do produto de acordo com a adubação e o tipo de solo, otimizando seu uso para diversas culturas em diferentes regiões do Brasil.

Em áreas experimentais da Embrapa Agricultura Digital localizadas em usinas e áreas da Coplacana, foi avaliada a eficácia do inoculante líquido comercial SolubPhos Cana na cultura da cana-de-açúcar, em sistema de produção similar ao manejo comercial empregado em canaviais destinados à produção de açúcar, etanol e biomassa (Cançado et al., 2021). Os resultados indicaram que as doses crescentes do inoculante líquido SolubPhos Cana, variando de 250 mL ha⁻¹ até 1 L ha⁻¹, foram capazes de promover de forma crescente, o aumento em toneladas de cana por hectare (TCH) e toneladas de açúcar por hecta-

re (TAH), mesmo com a metade da dose de P₂O₅ recomendada, indicando que o inoculante líquido SolubPhos Cana aumenta a disponibilidade de P para as plantas de cana, o que refletiu de forma positiva e estatisticamente significativa nos parâmetros de produtividade avaliados nas condições experimentais e nas variedades de cana-de-açúcar empregadas nos experimentos de campo (Cançado et al., 2021).

Outros produtos comerciais à base de MSP estão em fase de estudos e avaliação dentro de projetos da Embrapa para avaliação de doses de fosfato e recomendação de uso do produto BiomaPhos especificamente na cultura da cana--de-açúcar. Resultados preliminares com a inoculação no sulco de plantio e aplicação no corte da cana- soca, no estado de São Paulo, indicam um aumento da biomassa e arranque superior da cultura (Figura 11.1).

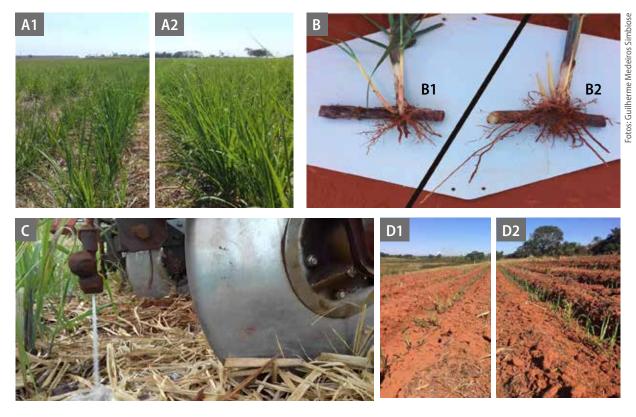


Figura 11.1. Soqueira de cana-de-açúcar 60 dias após inoculação com BiomaPhos (A2) e controle (A1), em Guarani D'Oeste, SP. Muda pré-brotada com 35 dias após a aplicação do BiomaPhos (B2) e controle (B1), em José Bonifácio, SP. Aplicação do BiomaPhos em cana-soca (C), em Guarani D'Oeste, e plantio de cana com BiomaPhos (D2) e controle (D1), em Orindiúva, SP.

Considerações finais

O uso de produtos biológicos é uma tendência mundial que contribui para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas nos aspectos econômicos (preços mais acessíveis), ambientais (reduzem contaminação do meio ambiente e dos usuários) e sociais (podem ser utilizados pelos vários extratos de produtores – da agricultura familiar à comercial). De acordo com os novos objetivos da Organização das Nações Unidas (ONU), em 2020, ideias sustentáveis e responsáveis (responsabilidade com a saúde humana, meio ambiente e com o bem-estar social) são funções de empresas, entidades de pesquisa e governo para construção da segurança alimentar e do equilíbrio ambiental.

Nesse sentido, a Embrapa iniciou uma busca por microrganismos na biodiversidade brasileira para identificar isolados que permitissem desenvolver um produto específico para os agricultores, utilizando bactérias fixadoras de N e solubilizadoras de P, as quais funcionassem bem nas condições de solo e clima brasileiro.

Apesar de alguma controvérsia sobre a contribuição da FBN em cana-de-açúcar, principalmente com o argumento de que esse processo não garante o suprimento de N para cultivos de média e alta produtividade (inclusive citando--se estudos realizados na África do Sul e na Austrália, que evidenciaram que a FBN não é uma fonte significativa desse nutriente em cana-de--açúcar, é prudente entender que esse processo é complementar a uma adequada fertilização nitrogenada, desde que não sejam antagônicos. Contribuições significativas da FBN em cana-de--açúcar no Brasil foram constatadas e representam relevantes informações para as condições brasileiras, principalmente pela expressiva dependência que esse processo tem em relação às variedades. Importante ressaltar que, em 2019, foi registrado no Brasil pela Embrapa o primeiro inoculante comercial para a cultura da cana-de-açúcar com a cepa fixadora de nitrogênio *Nitrospirillum amazonense*.

É ainda incipiente a questão da inoculação em campo pelas dificuldades encontradas para o desenvolvimento de inoculantes eficientes, principalmente em socarias que rebrotam durante o período mais seco do ano, dificultando a FBN, que é favorecida por condições em que haja suprimento adequado de água. Nesse sentido, escreve que a FBN é ainda uma questão aberta para eficientes programas de fertilização nitrogenada. Isso sugere o desenvolvimento de programas temáticos, como atualmente vem desenvolvendo a Embrapa, que certamente deverá contribuir consideravelmente para a geração de informação técnica necessária para o aprimoramento da FBN em cana-de-açúcar.

Quanto ao fósforo, a tecnologia da Embrapa recém-lançada no produto BiomaPhos e OMSUGO ECO para a cana-de-açúcar, é um exemplo interessante das diferentes etapas entre o início da pesquisa científica e a disponibilização do produto aos agricultores em condições tropicais. Os resultados positivos no campo, até mesmo em outras culturas além do milho, como soja, batata, feijão e cana-de-açúcar, chamam a atenção das indústrias produtoras de inoculantes, que são fundamentais nas etapas de formulação, produção em larga escala, comercialização do produto e treinamento dos agricultores. Além dos ganhos ambientais, é possível a redução dos custos com a adubação fosfatada sintética, tornando o processo ainda mais eficiente. Como as cepas de Bacillus não apresentam especificidade de hospedeiro, abre-se uma perspectiva de aumento de produtividades e aumento da eficiência de adubação em várias culturas não previstas incialmente pela Embrapa e parceiros.

De forma geral, o uso de microrganismos promotores de crescimento da cana-de-açúcar pode ainda ser otimizado com combinações apropriadas de seleção de estirpes, condições ambientais e genótipos de plantas. Nesse sentido, esforços adicionais devem ser feitos no desenvolvimento de bons inoculantes comerciais e sistemas de produção que permitam reduzir a quantidade de fertilizantes químicos usados para aumentar a fertilidade do solo e a produtividade dessa cultura.

Referências

ABREU, C. S.; FIGUEIREDO, J. E. F.; OLIVEIRA, C. A.; SANTOS, V. L.; GOMES, E. A.; RIBEIRO, V. P.; BARROS, B. A.; LANA, U. G. P.; MARRIEL, I. E. Maize endophytic bacteria as mineral phosphate solubilizers. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2017. DOI: 10.4238/gmr16019294.

ALMEIDA, C. N. S.; SANTOS, F. C. dos; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; FREITAS, A.; PAIVA, C. A. de O. **Adubação organomineral em associação com microrganismos solubilizadores de fósforo no milheto**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 38 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 147).

ALORI, E. T.; BABALOLA, O. O. Microbial inoculants for improving crop quality and human health in Africa. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 9, e2213, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02213.

ALORI, E. T.; DARE, M. O.; BABALOLA, O. O. Microbial inoculants for soil quality and plant health. **Sustainable Agriculture Reviews**, v. 12, p. 281-307, Jan. 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-48006-0_9.

AMANULLAH; KHAN, A. Phosphorus and compost management influence maize (*Zea mays*) productivity under semiarid condition with and without phosphate solubilizing bacteria. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article 1083, 2015. DOI: 10.3389/fpls.2015.01083.

ANTUNES, J. E. L.; FREITAS, A. D. S. de; OLIVEIRA, L. M. S. de; LYRA, M. D. C. C. P. de; FONSECA, M. A. C.; SANTOS, C. E. R. S.; OLIVEIRA, J. P.; ARAÚJO, A. S. F. de; FIGUEIREDO, M. V. B. Sugarcane inoculated with endophytic diazotrophic bacteria: effects on yield, biological nitrogen fixation and industrial characteristics. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, e20180990, 2019.

DOI: 10.1590/0001-3765201920180990.

ARMANHI, J. S. L.; SOUZA, R. S. C. de; DAMASCENO, N. B.; ARAÚJO, L. M. de; IMPERIAL, J.; ARRUDA, P. A community-based culture collection for targeting novel plant growth-promoting bacteria from the sugarcane microbiome. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 2191, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2017.02191.

ASUMING-BREMPONG, S. Phosphate solubilizing microorganisms and their ability to influence yield of rice. **Agricultural Science Research Journal**, v. 3, n. 12, p. 379-386, 2013.

BACKER, R.; ROKEM, J. S.; ILANGUMARAN, G.; LAMONT, J.; PRASLICKOVA, D.; RICCI, E.; SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D. L. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 1473, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.014.

BAHADIR, P. S.; LIAQAT, F.; ELTEM, R. Plant growth promoting properties of solubilizing *Bacillus* species isolated from the Aegeam region of Turkey. **Turkish Journal of Botany**, v. 42, n. 2, p. 183-196, 2018.

BALDANI, J. I.; AZEVEDO, M. S.; REIS, V. M.; TEIXEIRA, K. R.; OLIVARES, F. L.; GOI, S. R.; BALDANI, V. L. D.; DÖBEREINER, J. Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: avanços e aplicações. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (ed.). Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p. 621-666.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. Nov., sp.nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 86-93, Jan. 1986. DOI: 10.1099/00207713-36-1-86.

BALDANI, J. I.; POT, T. B.; KIRCHHOF, G.; FALSEN, E.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMANN, A.; GILLIS, M.; DOBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*: Inclusion of *[Pseudomonas] rubrisubalbicans* a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 46, n. 3, p. 802-810, July 1996.

BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; DOBEREINER, J. A brief story of nitrogen fixation in sugarcane: reasons for success in Brazil. **Functional Plant Biology**, v. 29, n. 4, p. 417-423, Apri. 2002. DOI: 10.1071/PP01083.

BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; OLIVARES F. L.; DOBEREINER, J. Identification and ecology of *Herbaspirillum seopedicae* and the closely related *Pseudomonas rubrisubalbicans*. **Symbiosis**, v. 19, p. 65-73, 1992.

BALDANI, V. L. D.; DÖBEREINER, J. Alternativas para uma agricultura mais ecológica. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (ed.). Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p. 171-174.

BAPTISTA, R. B.; MORAIS, R. F. de; LEITE, J. M.; SCHULTZ, N.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Variations in the 15 N natural abundance of plant-available N with soil depth: their influence on estimates of contributions of biological N₂ fixation to sugar cane. **Applied and Soil Ecology**, v. 73, p.124-129, Jan. 2014. DOI: 10.1016/j. apsoil.2013.08.008.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J. P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). **Plant and Soil**, v. 378, n. 1/2, p. 1-33, 2014. DOI: 10.1007/s11104-013-1956-x.

BERTALAN, M.; ALBANO, R.; DE PADUA, V.; ROUWS, L.; ROJAS, C.; HEMERLY, A. Complete genome sequence of the sugarcane nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal5. **BMC Genomics**, v. 10, article 450, 2009. DOI: 10.1186/1471-2164-10-450.

BIGGS, I. M.; STEWART, G. R.; WILSON, J. R.; CRITCHLEY, C. ¹⁵N natural abundance studies in Australian commercial sugarcane. **Plant and Soil**, v. 238, n. 1, p. 21-30, 2002. DOI: 10.1023/A:1014280420779.

BLACKWELL, M.; DARCH, T.; HASLAM, R. Phosphorus use efficiency and fertilizers: future opportunities for improvements. **Frontiers in Agricultural Science Engineering**, v. 6, n. 4, p. 332-340, 2019. DOI: 10.15302/J-FASE-2019274.

BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: recent progress and perspectives for future. **Plant and Soil**, v. 42, p. 241-250, 1995. DOI: 10.1007/978-94-009-1706-4 24.

BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; REIS, V. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, v. 252, p. 139-149, 2003. DOI: 10.1023/A:1024152126541.

BORDONAL, R. O.; CARVALHO, J. L. N.; LAL, R.; FIGUEIREDO, E. B.; OLIVEIRA, B. G.; LA SCALA JUNIOR, N. Sustainability of sugarcane production in Brazil: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 38, article 13, 2018. DOI: 10.1007/s13593-018-0490-x.

CABALLERO-MELLADO, J.; MARTINEZ-AGUILAR, L.; PAREDES-VALDEZ, G.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P. *Burkholderia unamae* sp. nov., in N₂- fixing rhizospheric and endophytic species. **International Journal of**

Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 54, n. 4, p. 1165-1172, 2004. DOI: 10.1099/ijs.0.02951-0.

CANÇADO, G. M. de A.; VASCONCELOS, J. C. S.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; CHRISTOFOLETTI, D.; SEVERINO, F. J.; PINTO JUNIOR, A. S.; MEDEIROS, G. de; BARBOSA, L. A. F.; SPERANZA, E. A.; ANTUNES, J. F. G. Utilização de inoculante líquido solubilizador de fosfato formulado a base dos isolados de *Bacillus megaterium* (B119) e *Bacillus subitilis* (B2084) no plantio da cana-de-açúcar. Campinas: Embrapa Agricultura Digital, 2021. 25 p. (Embrapa Agricultura Digital. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 49).

CARNEIRO JÚNIOR, J. B. Efeito do tratamento térmico e da inoculação de bactérias endofíticas no controle do raquitismo da soqueira da cana-de-açúcar. 2006. 92 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro.

CAVALCANTE, V. A.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v. 108, p. 23-31, May 1988. DOI: 0.1007/BF02370096.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; CARVALHO, M. R. de; MILLER, L. de O.; COLONIA, B. S. O. Evaluation of the phosphate solubilization potential of *Trichoderma* strains (Trichoplus JCO) and effects on rice biomass. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 15, n. 3, p. 794-804, 2015. DOI: 10.4067/S0718-95162015005000054.

CHAWLA, N.; PHOUR, M.; SUNEJA, S.; SANGWAAN, S.; GOYAL, S. *Gluconacetobacter diazotrophicus*: an overview. **Research in Environment and Life Sciences**, v. 7, n. 1, p. 1-10, Jan. 2014.

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, article 2171, Sept. 2019. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02171.

CHEN, Y. P.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; SHEN, F. T.; LAI, W. A.; YOUNG, C. C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v. 34, n. 1, p. 33-41, 2006. DOI: 10.1016/j.apsoil.2005.12.002.

CHOUYIA, F. E.; ROMANO, I.; FECHTALI, T.; FAGNANO, M.; FIORENTINO, N.; VISCONTI, D.; IDBELLA, M.;, V.; , O. P-Solubilizing *Streptomyces roseocinereus* MS1B15 with multiple plant growth-promoting traits enhance barley development and regulate rhizosphere microbial population. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, article 1137, Aug. 2020. DOI: 10.3389/fpls.2020.01137.

DÖBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, v. 13, p. 1-13, 1992.

DÖBEREINER, J. Nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* Derx in the rhizosphere of sugar cane. **Plant and Soil**, v. 15, p. 211-216, 1961.

DÖBEREINER, J.; DAY J. M. Associative symbioses in tropical grasses: characterization of microorganisms and nitrogen-fixing sites. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION, 1., 1975, Pullman. **Proceedings...** Pullman: Washington State University, 1975. p. 518-538.

DÖBEREINER, J.; DAY, J. M.; DART, P. J. Fixação de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum notatum* e da canade-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 8, n. 7, p. 153-157, 1973.

DÖBEREINER, J.; PIMENTEL. J. P.; OLIVARES, F. L.; URQUIAGA, S. Bactérias diazotróficas podem ser endofíticas ou fitopatogênicas? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 62, p. 319, 1990.

DÖBEREINER, J.; REIS, V. M.; PAULA, M. A.; OLIVARES, F. L. Endophytic diazotrophs in sugar cane, cereals and tuber plants. In: PALACIOS, R.; MORA, J.; NEWTON, W. E. (ed.). **New horizons in nitrogen fixation**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p. 671-676.

DÖBEREINER, J.; RUSCHEL, A. P. Uma nova espécie de *Beijerinkia*. **Revista de Biologia**, v. 1, p. 261-272, 1958.

EMAMI, T.; MIRZAEIIfuHEYDARI, M.; MALEKI, A.; BAZGIR, M. Effect of native growth promoting bacteria and commercial biofertilizers on growth and yield of wheat (*Triticum aestivum*) and barley (*Hordeum vulgare*) under salinity stress conditions. **Cellular and Molecular Biology**, v. 65, n. 6, p. 22-27, 2019. DOI: 10.14715/cmb/2019.65.6.5.

EMBRAPA. **Aplicativo Bioinsumos**. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-solucoestecnologicas/-/produto-servico/7227/aplicativo-bioinsumos. Acesso em: 6 fev. 2023.

ETESAMI, H.; MAHESHWARI, D. K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 156, p. 225-246, 2018. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.03.013.

FLYNN, H. C.; SMITH, P. Greenhouse gas budgets of crop production: current and likely future trends. Paris: International Fertilizer Association Industry, 2010. 67 p.

FUENTES-RAMÍREZ, L. E.; BUSTILIOS-CRISTALES, R.; TAPIA-HERNANDEZ, A.; JIMENEZ-SALGADO, T.; WANG, E. T.; MARTINEZ-ROMERO, E.; CABALLERO-MELLADO, J. Novel nitrogen-fixing acetic acid bacteria, *Gluconacetobacter johannae* sp. Nov. and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp.nov. associated with coffee plants. International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology, v.

51, n. 4, p. 1305-1314, 2001. DOI: 10.1099/00207713-51-4-1305.

GADD, G. M. Fungal production of citric and oxalic acid: Importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. **Advances in Microbial Physiology**, v. 41, p. 47-92, 1999. DOI: 10.1016/S0065-2911(08)60165-4.

GAO, X.; WU, Z.; LIU, R.; WU, J.; ZENG, Q.; QI, Y. Rhizosphere bacterial community characteristics over different years of sugarcane ratooning in consecutive monoculture. **BioMed Research International**, ID4943150, 2019. DOI: 10.1155/2019/4943150.

GILLIS, M.; DÖBEREINER, J.; POT, B.; GOOR, M.; FALSEN, E.; HOSTE, B.; KERSTERS, K. Taxonomic relationships between [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, some clinical isolates (EF group 1), *Herbaspirillim seropedicae* and [*Aqauspirillum*] *autotrophicum*. In: POLSINELLI, M.; MATERASSI, R.; VINCENZINI, M. (ed.). **Nitrogen fixation**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 293-294. (Development in Plant and Soil Sciences, v. 48).

GLOBALFERT. Entrega de fertilizantes deve chegar a 37 milhões de toneladas em 2020. Disponível em: https://www.globalfert.com.br/noticias/mercado/entrega-defertilizantes-deve-chegar-a-37-milhoes-de-toneladas-em-2020>. Acesso em: 28 ago. 2020.

GLOBALFERT. Volume de importação de fertilizantes no Brasil em 2018. Disponível em: https://www.globalfert.com.br/boletins/volume-de-importacao-de-fertilizantes-no-brasil-em-2018. Acesso em: 23 abr. 2019.

GOMES, E.; SILVA, U.; MARRIEL, I.; OLIVEIRA, C.; LANA, U. Rock phosphate solubilizing microorganisms isolated from maize rhizosphere soil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 1, p. 69-81, 2014. DOI: 10.18512/1980-6477/rbms.v13n1p69-81.

GOPALAKRISHNAN, S.; SRINIVAS, V.; SAMINENI, S. Nitrogen fixation, plant growth and yield enhancements by diazotrophic growth-promoting bacteria in two cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 11, p. 116-123, July 2017. DOI: 10.1016/j.bcab.2017.06.012.

GOSWAMI, D.; DHANDHUKIA, P.; PATEL, P.; THAKKER, J. N. Screening of PGPR from saline desert of Kutch: growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. **Microbiology Research**, v. 169, n. 1, p. 66-75, Jan. 2014. DOI: 10.1016/j.micres.2013.07.004.

GUMIERE, T.; ROUSSEAU, A. N.; COSTA, D. P. da; CASSETARI, A.; COTTA, S. R.; ANDREOTE, F. D.; GUMIERE, S. J.; PAVINATO, P. S. Phosphorus source driving the soil microbial interactions and improving sugarcane development. **Scientific Reports**, v. 9, article 4400, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-40910-1.

HAMEEDA, B.; HARINI, G.; RUPELA, O. P.; WANI, S. P.; REDDY, G. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. **Microbiological Research**, v. 163, n. 2, p. 234-242, 2008.

IRSHAD, M.; ANWAR, Z.; AFROZ, A. Characterization of Exo 1,4-b glucanase produced from *Trichoderma viride* through solid-state bio-processing of orange peel waste. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 3, n. 5, p. 580-584, 2012.

JONES, F. Lançado o primeiro produto nacional formulado com microrganismos para facilitar a absorção de fósforo do solo. **Pesquisa Fapesp**, n. 285, p. 77-78, nov. 2019.

KALAYU, G. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, v. 2019, ID4917256, 2019. DOI: 10.1155/2019/4917256.

KAUR, G.; REDDY, M. S. Effects of phosphate-solubilizing bacteria, rock phosphate and chemical fertilizers on maize-wheat cropping cycle and economics. **Pedosphere**, v. 25, n. 3, p. 428-437, June 2015.

KHALIL, I. H.; CARVER, B. F.; KRENZER, E. G.; MACKOWN, C. T.; HORN, G. W.; RAYAS-DUARTE, P. Genetic trends in winter wheat grain quality with dual-purpose and grain-only management systems. **Crop Science**, v. 42, n. 4, p. 1112-1116, 2002. DOI: 10.2135/cropsci2002.1112.

KHAN, A.; JILANI, V.; AKHTAR M. S.; NAQVI, S. M. S.; RASHEED M. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 1, n. 1, p. 48-58, 2009.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 27, p. 29-43, 2007. DOI: 10.1007/978-90-481-2666-8_34.

KINGSTON, G. **Mineral nutrition of sugarcane**. New York: John Willey, 2014.

KLOEPPER, J. W.; BEAUCHAMP, C. J. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 12, p. 1219-1232, 1992. DOI: 10.1139/m92-202.

KORNDÖRFER, G. H.; LARA-CABEZAS, W. A.; HOROWITZ, N. Eficiência agronômica de fosfatos naturais reativos na cultura do milho. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 2, p. 391-396, 1999. DOI: 10.1590/S0103-90161999000200019.

KUMAR, A.; KUMAR, A.; PATEL H. Role of microbes in phosphorus availability and acquisition by plants. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 5, p. 1344-1347, 2018.

KUMAR, B.; TRIVEDI, P.; PANDEY, A. *Pseudomonas corrugate*: a suitable bacterial inoculant for maize grown under rainfed conditions of Himalayan region. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 12, p. 3093-3100, 2007. DOI: 10.1016/j.soilbio.2007.07.003.

LI, Y.; LI, Q.; GUAN, G.; CHEN, S. Phosphate solubilizing bacteria stimulate wheat rhizosphere and endosphere biological nitrogen fixation by improving phosphorus content. **PeerJ**, v. 8, e9062, 2020. DOI: 10.7717/peerj.9062.

LIN, S.-Y.; HAMEED, A.; SHEN, F.-T.; LIU, Y.-C.; HSU, Y.-H.; SHAHINA, M.; LAI, W.-A.; YOUNG, C.-C. Description of *Niveispirillum fermenti* gen. nov., sp. nov., isolated from a fermentor in Taiwan, transfer of *Azospirillum irakense* 1989 as *Niveispirillum irakense* comb. nov., and reclassification of *Azospirillum amazonense* 1983 as *Nitrospirillum amazonense* gen. nov. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 105, n. 6, p. 1149-1162, 2014. DOI: 10.1007/s10482-014-0176-6.

LIRA, D. N. S.; ARAUCO, A. M. S.; BOECHAT, C. L.; MOITINHO, M. R.; LACERDA, J. J. J.; COSTA MARTINS, E. C. Associative diazotrophic bacteria inoculated in sugarcane cultivars: implications on morphophysiological attributes and plant nutrition. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 44, e0190155, 2020. DOI: 10.36783/18069657rbcs20190155.

LOPES, V. R.; BESPALHOK FILHO, J. C.; FIGUEIREDO, G. G. O.; OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E. Interaction between sugarcane families and plant growth-promoting bacteria in two crop cycles. **Semina**: Ciências Agrárias, v. 40, n. 2, p. 527-538, 2019. DOI: 10.5433/1679-0359.2019v40 n2p527.

LÓPEZ-ARREDONDO, D. L.; LEYVA-GONZÁLEZ, M. A.; GONZALEZ-MORALES, S. I.; LÓPEZ-BUCIO, J.; HERRERA-ESTRELLA, L. Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 95-123, 2014.

MAGALHÃES, F. M. M.; BALDANI, J. I.; SOUTO, S. M.; KUYKENDALL, J. R.; DÖBEREINER, J. A new acid tolerant *Azospirillum* species. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, v. 55, n. 4, p. 417-430, 1983.

MAHANTA, N.; LIU, A.; DONG, S.; NAIR, S. K.; MITCHELL, D. A. Enzymatic reconstitution of ribosomal peptide backbone thioamidation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 12, p. 3030-3035, 2018. DOI: 10.1073/pnas.1722324115.

MANZOOR, M.; ABBASI, M. K.; SULTAN, T. Isolation of phosphate solubilizing bacteria from maize rhizosphere and their potential for rock phosphate solubilization—mineralization and plant growth

promotion. **Geomicrobiology Journal**, v. 34, n. 1, p. 81-95, 2017.

MARQUES JÚNIOR, R. B.; CANELLAS, L. P.; SILVA, L. G.; OLIVARES, F. L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1121-1128, jun. 2008. DOI: 10.1590/S0100-06832008000300020.

MARTINS, D. S.; REIS, V. M.; SCHULTZ, N.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; PEREIRA, W.; SOUSA, J. S.; BODDEY, R. M. Both the contribution of soil nitrogen and of biological N2 fixation to sugarcane can increase with the inoculation of diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v. 454, p. 155-169, 2020.

MATTOS, B. B.; GOMES, E. A.; SOUSA, S. M. de; MARRIEL, I. E.; LANA, U. G. P.; SCHAFFERT, R. E.; OLIVEIRA, C. A. Sorghum genotypes response to inoculation with phosphate solubilizing bacteria. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 19, e1177, 2020. DOI: 10.1007/s11104-020-04621-1.

MEHNAZ, S.; LAZAROVITS, G. Inoculation effectas of *Pseudomonas putida, Gluconacetobacter azotocaptans* and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. **Microbial Ecology**, v. 51, n. 3, Apr. p. 326-335, 2006. DOI: 10.1007/s00248-006-9039-7.

MENDES, G.; FREITAS, A. L. M.; PEREIRA, O. P.; SILVA, I. R.; VASSILEV, N. B.; COSTA, M. D. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, v. 64, p. 239-249, 2014. DOI: 10.1007/s13213-013-0656-3.

MENEZES-BLACKBURN, D.; GILES, C.; DARCH, T.; GEORGE, T. S.; BLACKWELL, M.; STUTTER, M.; SHAND, C.; LUMSDON, D.; COOPER, P.; WENDLER, R.; BROWN, L.; ALMEIDA, D. S.; WEARING, C.; ZHANG, H.; HAYGARTH, P. M. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review. **Plant and Soil**, v. 427, p. 5-16, 2018. DOI: 10.1007/s11104-017-3362-2.

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; VADILELU, M. Antagonistic potential of N₂-fixing *Acetobacter diazotrophicus* against *Colletotrichum falcatum* Went., a causal organism of red-rot of sugarcane. **Current Science**, v. 78, n. 9, p. 1063-1065, May 2000.

NAHAS, E.; BANZATTO, D. A.; ASSIS, L. C. Fluorapatite solubilization by *Aspergillus niger* in vinasse medium. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, n. 8, p. 1097-1101, 1990. DOI: 10.1016/0038-0717(90)90035-X.

NAZIR, N.; KAMILI, A. N.; SHAH, D. Mechanism of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) in enhancing plant growth: a review. **International Journal of**

Management, Technology and Engineering, v. 8, p. 709-721, 2018.

NIETO-PENALVER, C. G.; SAVINO, M. J.; BERTINI, E. V.; SANCHEZ, L. A.; DE FIGUEROA, L. I. C. Gluconic acid produced by *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal5 possesses antimicrobial properties. **Research in Microbiology**, v. 165, n. 7, p. 549-558, 2014. DOI: 10.1016/j.resmic.2014.06.003.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: Ed. da Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399 p.

OLIVEIRA, A. L. M. de; CANUTO, E. L. de; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v. 284, p. 23-32, 2006. DOI: 10.1007/s11104-006-0025-0.

OLIVEIRA, A. L. M.; CANUTO, E. L.; SILVA, E. E.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Survival of endophytic diazotrophic bacteria in soil under different moisture levels. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 295-299, 2004. DOI: 10.1590/S1517-83822004000300005.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DOBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N₂-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v. 242, p. 205-215, 2002.

DOI: 10.1023/A:1016249704336.

OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; SÁ, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v.41, n. 9, p. 1782-1787, Sept. 2009. DOI: 10.1016/j.soilbio.2008.01.012.

OLIVEIRA, C. A.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; COTA, L. V.; SANTOS, F. C. dos; SOUSA, S. M. de; LANA, U. G. de P.; OLIVEIRA, M. C.; MATTOS, B. B.; ALVES, V. M. C.; RIBEIRO, V. P.; VASCO JÚNIOR, R. Recomendação agronômica de cepas de *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020. 18 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 260).

OLIVEIRA, C. A.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; MATTOS, B. B.; SANTOS, F. C. dos; OLIVEIRA, M. C.; ALVES, V. M. C. Metodologia de aplicação de microrganismos solubilizadores de fósforo em sementes visando melhor aproveitamento deste nutriente pelas plantas. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013. 25 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 88).

ONGENA, M.; JACQUES, P. *Bacillus lipopeptides*: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 115-125, 2008. DOI: 10.1016/j.tim.2007.12.009.

OWEN, B. M.; MANGELSDORF, D. J.; KLIEWER, S. A. Tissue-specific actions of the metabolic hormones FGF15/19 and FGF21. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 26, n. 1, p. 22-29, Jan. 2015. DOI: 10.1016/j.tem.2014.10.002.

PEIX, A.; RIVAS-BOYERO, A. A.; MATEOS, P. F.; RODRIGUEZ-BARRUECO, C.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; VELAZQUEZ, E. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 1, p. 103-110, Jan. 2001. DOI: 10.1016/S0038-0717(00)00120-6.

PELLEGRINI, M.; ERCOLE, C.; DI ZIO, C.; MATTEUCCI, F.; PACE, L.; DEL GALLO, M. In vitro and in planta antagonistic effects of plant growth-promoting rhizobacteria consortium against soilborne plant pathogens of *Solanum tuberosum* and *Solanum lycopersicum*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 367, n. 13, Fnaa09, July 2020. DOI: 10.1093/femsle/fnaa099.

PEREIRA, W.; SOUSA, J. S.; SCHULTZ, N.; REIS, V. M. Sugarcane productivity as a function of nitrogen fertilization and inoculation with diazotrophic plant growth-promoting bacteria. **Sugar Tech**, v. 21, p. 71-82, 2019. DOI: 10.1007/s12355-018-0638-7.

PÉREZ-MONTAÑO, F.; JIMÉNEZ-GUERRERO, I.; CONTRERAS SÁNCHEZ-MATAMOROS, R.; LÓPEZ-BAENA, F. J.; OLLERO, F. J.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; BELLOGÍN, R. A.; ESPUNY, R. Rice and bean AHL-mimic quorum-sensing signals specifically interfere with the capacity to form biofilms by plant-associated bacteria. **Research in Microbiology**, v. 164, n. 7, p. 749-760, Sept. 2013. DOI: 10.1016/j.resmic.2013.04.001.

PERIN, L.; MARTÍNEZ-AGUILAR, L.; PAREDES-VALDEZ, G.; BALDANI, J. I.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P.; REIS, V. M.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia silvatlantica* sp. nov., a diazotrophic bacterium associated with sugarcane and maize. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, n. 8, p. 1931-1937, 2006. DOI: 10.1099/ijs.0.64362-0.

PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, T.; TERZANO, R.; CESCO, S.; CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process: a review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, p. 403-415, 2015. DOI: 10.1007/s00374-015-0996-1.

PIÑÓN, D.; CASAS, M.; BLANCH, M.; FONTANIELLA, B.; BLANCO, Y.; VICENTE, C.; SOLAS, M. T.; LEGAZ, M. E. *Gluconacetobacter diazotrophicus*, a sugarcane endosymbiont, produces a bacteriocin against *Xanthomonas albilineans*, a sugarcane pathogen.

Research in Microbiology, v. 153, n. 6, p. 345-351, July-Aug. 2002. DOI: 10.1016/S0923-2508(02)01336-0.

RAMÍREZ, L. E.; CABALLERO-MELLADO, J. Bacterial biofertilizers, In: SIDDIQUI, Z. A. (ed.). **PGPR**: biocontrol and biofertilization. Dordrecht: Springer, 2006. p. 43-172.

RAZA, A.; ZAHRA, N.; HAFEEZ, M. B.; AHMAD, M.; IQBAL, S.; SHAUKAT, K.; AHMAD, G. Nitrogen fixation of legumes: biology and physiology. In: HASANUZZAMAN, M.; ARAÚJO, S.; GILL, S. (ed.). **The plant family Fabaceae**. Singapore: Springer, 2020.

REED, S. C.; CLEVELAND, C. C.; TOWNSEND, A. R. Functional ecology of free-living nitrogen fixation: a contemporary perspective. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 42, p. 489-512, Aug. 2011.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M. de; SILVA, M. F. da; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Inoculants for sugar cane: the scientific bases for the adoption of the technology for biofuel production. In: DAKORA, F. D.; CHIMPHANGO, S. B. M.; VALENTINE, A. J.; ELMERICH, C.; NEWTON, W. E. (ed.). **Biological nitrogen fixation**: towards poverty alleviation through sustainable agriculture. Dordrecht: Springer, 2008. p. 67-68.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 153-174.

REIS, V. M.; VANDERLEYDEN, J.; SPAEPEN, S. N2 fixing endophytes of grasses and cereals. In: POLACCO, J. C.; TODD, C. D. **Ecological aspects of nitrogen metabolism in plants**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2011. p. 231-253.

REZAKHANI, L.; MOTESHAREZADEH, B.; TEHRANI, M. M.; ETESAMI, H.; HOSSEINI, H. M. Effect of Silicon and phosphate-solubilizing bacteria on improved phosphorus (P) uptake is not specific to insoluble p-fertilized sorghum (*Sorghum bicolor* L.) plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 39, p. 239-253, May 2020. DOI: 10.1007/s00344-019-09978-x.

RIBEIRO, V. P.; MARRIEL, I. E.; SOUSA, S. M.; LANA, U. G. P.; MATTOS, B. B.; OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A. Endophytic *Bacillus* strains enhance pearl millet growth and nutrient uptake under low-P. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, S1, p. 40-46, 2018. DOI: 10.1016/j.bjm.2018.06.005.

RICHARDSON, A. E.; BAREA, J.; MCNEILL, A. M.; COMBARET-PRIGENT, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant and Soil**, v. 321, p. 305-339, 2009. DOI: 10.1007/s11104-009-9895-2.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v. 17, n. 4/5, p. 319-339, Oct. 1999. DOI: 10.1016/S0734-9750(99)00014-2.

ROMÃO-DUMARESQ, A. S.; FRANCO, H. C. J.; BORGES, B. M. M. N.; BATISTA, B. D.; QUECINE, M. C. Beneficial microorganisms associated with sugarcane crops: the green gold for clean energy. In: AZEVEDO, J. de; QUECINE, M. (ed.). **Diversity and benefits of microorganisms from the tropics**. Cham: Springer, 2017.

ROSA, P. A. L.; MORTINHO, E. S.; JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; FERNANDES, G. C.; BARCO NETO, M.; PAVINATO, P. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, article 32, 2020. DOI: 10.3389/fenvs.2020.00032.

SAMPAIO, E. V. S. B.; SALCEDO, I. H.; VICTORIA, R. L.; TRIVELIN, P. C. O. Redistribution of the nitrogen reserves of ¹⁵N enriched stem cuttings and dinitrogen fixed by 90-day-old sugarcane plants. **Plant and Soil**, v. 108, p. 275-279, May 1988. DOI: 10.1007/BF02375659.

SANTOS, R. M.; DIAZ, P. A. E.; LOBO, L. L. B.; RIGOBELO, E. C. Use of plant growth-promoting rhizobacteria in maize and sugarcane: characteristics and applications. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, article 136, Sept. 2020a. DOI: 10.3389/fsufs.2020.00136.

SANTOS, S. G dos; RIBEIRO, F. da S.; ALVES, G. C.; SANTOS, L. A.; REIS, V. M. Inoculation with five diazotrophs alters nitrogen metabolism during the initial growth of sugarcane varieties with contrasting responses to added nitrogen. **Plant and Soil**, v. 451, p. 25-44, 2020b. DOI: 10.1007/s11104-019-04101-1.

SANTOS, S. G. dos; CHAVES, V. A.; RIBEIRO, F. S.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Rooting and growth of pre-germinated sugarcane seedlings inoculated with diazotrophic bacteria. **Applied Soil Ecology**, v. 133, p. 12-23, Jan. 2019. DOI: 10.1016/j.apsoil.2018.08.015.

SANTOS, S. G. dos; RIBEIRO, F. D.; FONSECA, C. S.; PEREIRA, W.; SANTOS, L. A.; REIS, V. M. Development and nitrate reductase activity of sugarcane inoculated with five diazotrophic strains. **Archives of Microbiology**, v. 199, p. 863-873, 2017. DOI: 10.1007/s00203-017-1357-2.

SATHYA, A.; VIJAYABHARATHI, R.; GOPALAKRISHNAN, S. Soil microbes: the invisible managers of soil fertility. In: SINGH, D. P.; SINGH, H. B.; PRABHA, R. **Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity**. New York: Springer, 2016. v. 2, p. 1-16.

SATYAPRAKASH, M.; NIKITHA, T.; REDDI, E. U. B.; SADHANA, B.; VANI, S. S. Phosphorous and phosphate solubilizing bacteria and their role in plant nutrition. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, v. 6, n. 4, p. 2133-2144, 2017. DOI: 10.20546/ijcmas.2017.604.251.

SCHLEMPER, T. R.; DIMITROV, M. R.; GUTIERREZ, F. A. O.; VEEN, J. A. van; SILVEIRA, A. P. D.; KURAMAE, E. Effect of *Burkholderia tropica* and *Herbaspirillum frisingense* strains

on sorghum growth is plant genotype dependent. **PeerJ**, v. 6, e5346, July 2018.

SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; SILVA, P. A.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Yield of sugarcane varieties and their sugar quality grown in different soil types and inoculated with a diazotrophic bacteria consortium. **Plant Production Science**, v. 20, n. 4, p. 366-374, Aug. 2017. DOI: 10.1080/1343943X.2017.1374869.

SCHULTZ, N.; SILVA, J. A.; SOUSA, J. S.; MONTEIRO, R. C.; OLIVEIRA, R. P.; CHAVES, V. A.; PEREIRA, W.; SILVA, M. F.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 2, p. 359-371, 2014. DOI: 10.1590/S0100-06832014000200005.

SELVI K. B.; PAUL, J. J. A.; VIJAYA, V.; SARASWATHI, K. Analyzing the efficacy of phosphate solubilizing microorganisms by enrichment culture techniques. **Biochemistry and Molecular Biology Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2017. DOI: 10.21767/2471-8084.100027.

SHAW, J. N. Iron and aluminum oxide characterization for highly-weathered Alabama ultisols. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, n. 1/2, p. 49-64, 2001. DOI: 10.1081/CSS-100102992.

SIMS, J. T.; SIMARD, R. R.; JOERN, B. C. Phosphorus loss in agricultural drainage: historical perspective and current research. **Journal of Environmental Quality**, v. 27, n. 2, p. 277-293, 1998. DOI: 10.2134/jeq1998.00472425002700020006x.

SINGH, J. S.; KOUSHAL, S.; KUMAR, A.; VIMAL, S. R.; GUPTA, V. K. Book review: microbial inoculants in sustainable agricultural productivity-Vol. II: functional application.

Frontiers of Microbiology, v. 7, article 2105, Dec. 2016.

DOI: 10.3389/fmicb.2016.02105.

SINGH, H.; REDDY, M. S. Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. **European Journal of Soil Biology**, v. 47, n. 1, p. 30-34, Jan.-Feb. 2011. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2010.10.005.

SLAPSAK, N.; CLEENWERCK, I.; DE VOS, P.; TRCEK, J. *Gluconacetobacter maltaceti* sp. nov., a novel vinegar producing acetic acid bacterium. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 17-21, Feb. 2013. DOI: 10.1016/j.syapm.2012.11.001.

SOUSA, S. M. de; PAIVA, C. A. O.; ANDRADE, D. L.; CARVALHO, C. G. de; RIBEIRO, V. P.; PASTINA, M. M.; MARRIEL, I. E.; LANA, U. G. de P.; GOMES, E. A. Tropical *Bacillus* strains inoculation enhances maize root surface area, Dry weight, nutrient uptake and grain yield. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 867-877, May 2020. DOI: 10.1007/s00344-020-10146-9.

SOUZA, R. S. C.; OKURA, V. K.; ARMANHI, J. S. L.; JORRÍN, B.; LOZANO, N.; SILVA, M. J. da; GONZÁLEZ-GUERRERO, M.; ARAÚJO, L. M. de; VERZA, N. C.; BAGHERI, H. C.; IMPERIAL, J.; ARRUDA, P. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. **Scientific Reports**, v. 6, article 28774, June 2016.

STAMFORD, N. P.; LIMA, R. A.; LIRA JÚNIOR, M. A.; SANTOS, C. E. R. S. Effectiveness of phosphate and potash rocks with *Acidithiobacillus* on sugar cane yield and their effects in soil chemical attributes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 2061-2066, 2008. DOI: 10.1007/s11274-008-9710-x.

STAMFORD, N. P.; LIMA, R. A.; SANTOS, C. R. S.; DIAS, S. H. L. Rock biofertilizers with *Acidithiobacillus* on sugarcane yield and nutrient uptake in a Brazilian soil. **Geomicrobiology Journal**, v. 23, n. 5, p. 261-265, 2006. DOI: 10.1080/01490450600760658.

STRAATEN, P. van. **Rocks for crops**: agrominerals of sub-Saharan Africa. Nairobi: International Center for Research in Agroforestry; Guelph: University of Guelph, 2002. 338 p.

SUNDARA, B.; NATARAJAN, V.; HARI, K. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. **Field Crops Research**, v. 77, n. 1, p. 43-49, Aug. 2002. DOI: 10.1016/S0378-4290(02)00048-5.

SUTALIYA, R.; SINGH, R. N. Effect of planting time, fertility level and phosphate solubilizing bacteria on growth, yield and yield attributes of winter maize (*Zea mays*) under rice (*Oryza sativa*) - maize cropping system. **Indian Journal of Agronomy**, v. 50, n. 3, p. 173-175, 2005.

TABASSUM, B.; KHAN, A.; TARIQ, M.; RAMZAN, M.; KHAN, M. S. I.; SHAHID, N.; AALIYA, K. Bottlenecks in commercialization and future prospects of PGPR. **Applied Soil Ecology**, v. 121, p. 102-117, Dec. 2017. DOI: 10.1016/j.apsoil.2017.09.030.

TAPIA-TORRES, Y.; RODRÍGUEZ-TORRES, M. D.; ELSER, J. J.; ISLAS, A.; SOUZA, V.; GARCÍA-OLIVA, F.; OLMEDO-ÁLVAREZ, G. How to live with phosphorus scarcity in soil and sediment: lessons from bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, p. 4652-4662, July 2016. DOI: 10.1128/AEM.00160-16.

TARRAND, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with the descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen.nov. and two species *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb.nov. and *Azospirillum brasilense* sp.nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, n. 8, p. 967-980, Aug. 1978. DOI: 10.1139/m78-160.

URQUIAGA, S.; CRUZ, K. H. S.; BODDEY, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and

Nitrogen-balance estimates. **Soil Science Society of America Journal**, v. 56, n. 1, p. 105-114, Jan. 1992. DOI: 10.2136/sssaj1992.03615995005600010017x.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R. P.; MORAIS, R. F. de; BATISTA, R. B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J. M.; MAIA E SÁ, J.; BARBOSA, K., P.; RESENDE, A., S.; ALVES, B. J., R.; BODDEY, R. M. Evidence from field nitrogen balance and ¹⁵N natural abundance data for the contribution of biological N₂ fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, v. 356, p. 5-21, 2012. DOI: 10.1007/s11104-011-1016-3.

VARMA, P. K.; UPPALA, S.; PAVULURI, K.; CHANDRA, K. J.; CHAPALA, M. M.; KUMAR, K. V. K. Endophytes: role and functions in crop health. In SINGH, D.; SINGH, H.; PRABHA, R. (ed.). **Plant-microbe interactions in agroecological perspectives**. Singapore: Springer, 2017. p. 291-310.

VELLOSO, C. C. V.; OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A.; LANA, U. G. P.; CARVALHO, C. G.; GUIMARÃES, L. J. M.; PASTINA, M. M.; SOUSA, S. M. de. Genome-guided insights of tropical *Bacillus* strains efficient in maize growth promotion. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 96, n. 9, fiaa157, Sept. 2020. DOI: 10.1093/femsec/fiaa157.

WALLACE, J. G.; MAY, G. Endophytes: the other maize genome. In: BENNETZEN, J.; FLINT-GARCIA, S.; HIRSCH, C.; TUBEROSA, R. (ed.). **The maize genome**. Cham: Springer, 2018. p. 213-246.

WALPOLA, B. C.; YOON, M. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: a review. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 37, p. 6600-6605, Sept. 2012. DOI: 10.5897/AJMR12.889.

WITHERS, P. J. A.; RODRIGUES, M.; SOLTANGHEISI, A.; CARVALHO, T. S. de; GUILHERME, L. R. G.; BENITES, V. M.; GATIBONI, L. C.; SOUSA, D. M. G. de; NUNES R. S.; ROSOLEM, C. A.; ANDREOTE, F. D.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; COUTINHO, E. L. M.; PAVINATO, O. S. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, v. 8, article 2537, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-20887-z.

YAMADA, Y.; HOSHINO, K.; ISHIKAWA, T. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of *16S* ribossomal RNA: the elevation of the subgenus *Gluconoacetobacter* to generic level. **Bioscience**, **Biotechnology and Biochemistry**, v. 61, n. 8, p. 1244-1251, Jan. 1997. DOI: 10.1271/bbb.61.1244.

YOUSEFI, A.; KHAVAZI, K.; MOEZI, A.; REJALI, F.; NADIAN, H. Phosphate solubilizing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi impacts on inorganic phosphorus fractions and wheat growth. **World Applied Sciences Journal**, v. 15, n. 9, p. 1310-1318, 2011.