

PROSPECÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO
DE BACTÉRIAS DA SERRAPILHEIRA E DO SOLO EM ÁREA DE
FLORESTA ATLÂNTICA DO NORTE FLUMINENSE

MANUELA APARECIDA DE OLIVEIRA BENTO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MAIO – 2013

PROSPECÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO
DE BACTÉRIAS DA SERRAPILHEIRA E DO SOLO EM ÁREA DE
FLORESTA ATLÂNTICA DO NORTE FLUMINENSE

MANUELA APARECIDA DE OLIVEIRA BENTO

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Fabio Lopes Olivares

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MAIO – 2013

PROSPECÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO
DE BACTÉRIAS DA SERRAPILHEIRA E DO SOLO EM ÁREA DE
FLORESTA ATLÂNTICA DO NORTE FLUMINENSE

MANUELA APARECIDA DE OLIVEIRA BENTO

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 10 de maio de 2013

Comissão Examinadora:

Prof.^a Lilian Estrela Borges Baldotto (D.Sc., Gen. e Melhor.Plantas) – UFV

Prof.^a Luciana Aparecida Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Prof. Clóvis de Paula Santos (D.Sc., Parasitologia Veterinária) – UENF

Prof. Fabio Lopes Olivares (Ph.D., Microbiologia do Solo) - UENF
(Orientador)

Dedico,

Aos meus pais, João Luiz e Dulcina Maria, pelo exemplo de vida, pelo incentivo e amor incondicional a mim dispensado; Aos meus irmãos Maria Águeda e Marco Antônio; ao meu namorado Pedro e aos amigos do laboratório.

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu Senhor, em quem confio integralmente, pela orientação nas decisões, pelo sustento na dificuldade e por atender minhas orações na hora exata;

Aos grandes amores de minha vida, meus pais, João Luiz Bento e Dulcina Maria de Oliveira Bento que sempre acreditaram em mim, incentivaram e me deram a oportunidade de estar realizando mais um sonho em minha vida;

Ao meu amor, amigo e companheiro Pedro, pela confiança, carinho, paciência e incentivo a mim dedicado;

Aos meus irmãos Maria Águeda e Marco Antônio, pelo apoio - especiais para sempre!

À minha querida sobrinha Marina;

Ao Professor Fábio Lopes Olivares, pela oportunidade, atenção e empenho na realização desse trabalho, pela contribuição com seus conhecimentos e pela amizade;

Aos meus queridos amigos Bruna Pintor, Jucimara de Jesus, Kamilla Aguiar, Olívia Moraes, Laura Moraes, Amâncio Gabriel, Diego Rangel pela ajuda, pela amizade, pelos momentos de alegria e de descontração, fundamentais em minha vida, deixando os dias e o trabalho bem mais leve;

Aos companheiros de trabalho do NUDIBA e LBCT;

Aos técnicos de laboratório, em especial Adrianinha, pela ajuda fundamental para realização desse trabalho;

À Nathália Duarte e Marina Barducco pela importante colaboração na extração do DNA e nas análises das sequências de bases da 16S r-DNA das bactérias;

À UENF pela concessão da bolsa de mestrado que me permitiu o privilégio de dedicar-me integralmente à pesquisa que agora concluo e marca o início de nova etapa em minha vida;

Um agradecimento especial a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

Muitíssimo obrigada!!

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Biodiversidade microbiana do solo.....	4
2.2 Diversidade funcional de microrganismos no solo.....	5
2.2.1 Fixação biológica de nitrogênio.....	6
2.2.2 Solubilização de fósforo.....	7
2.2.3 Solubilização de zinco.....	9
2.2.4 Produção de fitormônios.....	10
2.3 Matéria orgânica no solo.....	11
2.4 Interação entre matéria orgânica e microrganismos do solo.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Caracterização da área de estudo e amostragem.....	17
3.2 Isolamento das bactérias diazotróficas e não diazotróficas.....	19
3.3 Quantificação da população basal e carbono induzido de bactérias fixadoras de nitrogênio e não fixadoras nas diferentes amostras de solo.....	21
3.4 Caracterização morfológica e cultural dos isolados.....	22
3.5 Determinação de traços fenotípicos para promoção do crescimento.....	23
3.6 Identificação molecular dos isolados.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 Isolamento e contagem das bactérias.....	26
4.2 Caracterização morfológica e cultural dos isolados.....	34
4.3 Classificação dos microrganismos isolados quanto às características fenotípicas da colônia segundo Perin (2003).....	38

4.4 Características fenotípicas dos isolados relacionados a promoção do crescimento vegetal.....	40
4.5 Identificação taxonômica dos isolados.....	48
5. RESUMO E CONCLUSÕES	60
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
7. APÊNDICES.....	83

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Estimativa da densidade populacional de bactérias diazotróficas totais do grupo I em dois meios semi-sólidos (JNFb e LGI) por meio de estimativa da população e carbono induzido na serrapilheira (S) e nas diferentes profundidades no solo (P1, P2 e P3).....	27
TABELA 2: Estimativa da densidade populacional de bactérias heterotróficas totais do grupo I e do grupo II por meio de contagem basal e carbono induzido na serrapilheira (S) e nas diferentes profundidades no solo (P1, P2 e P3).....	30
TABELA 3: Identificação molecular dos isolados bacterianos, obtidos em amostras de serrapilheira (S) e diferentes profundidades de amostras de solo (P1: 0-10 cm; P2: 10-20 cm e P3: 20-40 cm) oriundos de Floresta de Tabuleiro da Estação Ecológica de Guaxindiba, baseados em suas sequências 16S rDNA com base em consultas BLAST.....	49
TABELA 1 A: Análise química do Argissolo Amarelo do grupo I, coletado em setembro de 2011.....	86
TABELA 2 A: Análise química do Argissolo Amarelo do grupo II, coletado em abril 2012.....	87
TABELA 3 A: Análise granulométrica do Argissolo Amarelo grupo I.....	88
TABELA 4 A: Características morfológicas dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011(Grupo I).....	89
TABELA 5 A: Características morfológicas dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de abril de 2012 (Grupo II).....	93
TABELA 6 A: Características das colônias dos isolados bacterianos, obtidos na	

coleta de setembro de 2011 (Grupo I).....	95
TABELA 7 A: Características das colônias dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de abril de 2012 (Grupo II).....	99
TABELA 8 A: Valores de índice de solubilização (IS) e classificação dos isolados bacterianos do grupo I quanto à capacidade de solubilizar fosfato de Ca e óxido de zinco.....	101
TABELA 9 A: Valores de índice de solubilização (IS) e classificação dos isolados bacterianos do grupo II quanto à capacidade de solubilizar fosfato de Ca e óxido de zinco.....	105
TABELA 10 A: Valores da produção de AIA em μM dos isolados bacterianos do grupo I e grupo II.....	107

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Ciclagem de nutrientes em floresta tropical (de acordo com Schlesinger, 1997).....	15
FIGURA 2: Imagem de satélite dos quatro pontos referenciados da Estação Ecológica de Guaxindiba onde os estudos se desenvolveram.....	18
FIGURA 3: Precipitação pluviométrica (expressa em mm) observada no posto climatológico do campus Dr. Leonel Miranda (Campos dos Goytacazes- RJ). (A) Série mensal no ano de 2011 com precipitação total acumulada de 741,6 mm; (B) Série mensal no ano de 2012 com precipitação total acumulada de 868,2 mm; em (C) é possível observar a média de precipitação mensal nos últimos 30 anos.....	19
FIGURA 4: Caracterização morfológica das colônias bacterianas, de acordo com a elevação, bordo e superfície.....	22
FIGURA 5: Exemplos de isolados bacterianos oriundos do solo (Grupo I).....	34
FIGURA 6: Característica morfológica da célula dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011(Grupo I).....	35
FIGURA 7: Característica morfológica da célula dos isolados bacterianos, obtidos pela coloração de gram da coleta de setembro de 2011(Grupo I).....	36
FIGURA 8: Característica morfológica da célula dos isolados bacterianos, obtidos pela coloração de Gram na coleta de abril de 2012 (Grupo II).....	37

FIGURA 9: Caracterização morfológica e cultural dos isolados microbianos do grupo I (A e B) e grupo II (C) e (D) imagem ilustrativa. Onde: A= isolado bacteriano 4T.F (bastão gram positivo), B= isolado bacteriano 15D.B (bastão gram negativo), C= isolado bacteriano 6E (cocos gram negativa) e D= Imagem ilustrativa (cocos gram positivo).....	37
FIGURA 10: Características morfológicas das colônias dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011(Grupo I).....	38
FIGURA 11: Características morfológicas das colônias dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de abril de 2012 (Grupo II).....	39
FIGURA 12: Solubilização de óxido de zinco (ZnO) e fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011 (Grupo I) e abril de 2012 (Grupo II).....	40
FIGURA 13: Solubilização de Zn e P do grupo II. Onde: Os isolados A (13B), B (13H) e C(7L) são isolados solubilizadores de Zn e D (4E), E (7H) e F(11B) são solubilizadores de P.....	43
FIGURA 14: Produção de ácido indol acético por isolados da fração serrapilheira da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo I.....	45
FIGURA 15: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P1) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo I.....	46
FIGURA 16: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P2) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo I.....	46
FIGURA 17: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P3) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo I.....	47
FIGURA 18: Produção de ácido indol acético por isolados da fração serrapilheira da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo II.....	47
FIGURA 19: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P1) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo II.....	48
FIGURA 20: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P2) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo II.....	48
FIGURA 21: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P3) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo II.....	49
FIGURA 1 A: Variação nas características químicas em função da profundidade em amostras de solo (amostragem outubro/2011 e abril/2012), obtidas em quatro pontos de um setor preservado da Mata de Tabuleiro, em área de proteção permanente da Estação Ecológica de Guaxindiba.....	85

RESUMO

BENTO, Manuela Aparecida de Oliveira, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, maio de 2013. Prospecção e avaliação do potencial biotecnológico de bactérias da serrapilheira e do solo em área de floresta atlântica do Norte Fluminense. Orientador: Prof. Fabio Lopes Olivares.

A Mata Atlântica é reconhecida como um dos biomas brasileiros mais ricos em espécies de plantas e animais. O volume relativamente elevado de informações sobre a diversidade vegetal contrasta com os estudos reduzidos sobre a diversidade de microrganismos existentes no solo deste bioma. Esta carência pode gerar oportunidades para descrição de novas espécies de micróbios, com impactos na conservação de nosso patrimônio genético e possíveis aplicações biotecnológicas para agricultura e outros domínios da ciência e tecnologia. Propõe-se nesta dissertação, um trabalho de quantificação de bactérias heterotróficas totais e bactérias fixadoras de nitrogênio. Subsequentemente, a partir do isolamento e caracterização microbiológica das bactérias, foram avaliados a capacidade dos isolados de fixar biologicamente o nitrogênio, secretar compostos indólicos, solubilizar minerais fosfatados e de zinco e foram realizadas análises para identificação molecular dos isolados. Foram obtidos um total de 232 isolados, onde, no primeiro grupo (coleta setembro/2011), encontram-se 169 isolados bacterianos e no segundo grupo (coleta abril/2012), foram obtidos 63 isolados bacterianos. A estimativa do

tamanho das populações bacterianas na condição de potencial basal (pB) e no potencial carbono induzido (pC) na serrapilheira (S) e nas diferentes profundidades no solo (P1, P2 e P3) revelaram os maiores níveis populacionais de bactérias diazotróficas na fração serrapilheira e populações não detectáveis em diferentes profundidades. As estimativas pC indicaram incremento das populações de diazotróficos em todo perfil do solo analisadas. Dos isolados obtidos no grupo I, 75% apresentaram características morfológicas de bastões e 25% apresentaram características morfológicas esféricas e 89% foram caracterizadas como Gram-negativas e 11% como Gram-positivas. Quanto à solubilização de P e Zn, respectivamente 91 e 67% dos isolados bacterianos foram capazes de solubilizar. No segundo grupo, dos 63 isolados bacterianos, 60% se apresentam na forma bastão e 40% na forma esférica, 62% das bactérias foram caracterizadas como Gram-negativas e 38% como Gram-positivas. Quanto à solubilização de P e Zn, respectivamente 56 e 41% foram positivos para esta característica. Todos os isolados bacterianos, na presença ou ausência de triptofano foram capazes de produzir compostos indólicos nos dois grupos. A quantificação de AIA variou de 15,3 a 688,0 μM em meio sem triptofano e de 12,8 a 603,2 μM em meio na presença de triptofano para o grupo I e 53,5 a 625,0 μM em meio sem triptofano e 48,0 a 619,2 μM em meio acrescido de triptofano para o grupo II. Identificação molecular das bactérias pelo sequenciamento do gene 16S rDNA resultou em 13 gêneros distribuídos em 25 táxons pertencentes aos filos Proteobacteria (76 % das linhagens), Firmicutes (16 %), Actinobacteria (4%) e Bacteroidetes (4%). Estes dados de sequenciamento são relativos apenas às bactérias oriundas do grupo II (coleta de abril/2012) e cobrem 36% do universo de isolados. Os resultados permitem concluir que o índice pluviométrico afeta a quantidade e diversidade populacional de microrganismos culturáveis, que as maiores densidades e diversidade taxonômica de bactérias heterotróficas encontram-se no compartimento serrapilheira e que o sistema solo-serrapilheira deste bioma possui elevado potencial para geração de processos e produtos microbianos.

Palavras-chave: fixação de nitrogênio, diversidade microbiana, ciclagem de nutrientes.

ABSTRACT

BENTO, Manuela Aparecida de Oliveira, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, May, 2013. Exploration and evaluation of the biotechnological potential of bacteria from litter and soil in an area of Atlantic Forest at North Fluminense. Advisor: Prof. Fabio Lopes Olivares.

The Atlantic Rainforest is known as one of the richest Brazilian plant and animal biomes. The relatively high amount of information on vegetable diversity contrasts with poor studies on microorganisms living on that biome soil. Such a lack of information may give place to opportunities for description of new species of microbe, influencing the conservation of our genetic heritage and possible applications in biotechnology for agriculture and other sciences and technologies issues. This dissertation intends to quantify a total of heterotrophic bacteria and nitrogen-fixing bacteria. Subsequently, from the microbiological isolation and characterization of bacteria it was assessed the capacity of the isolated ones to biologically fix nitrogen, secrete indole composites, solubilize zinc and phosphate minerals, and there were performed analysis for molecular identification of the isolated. Were obtained a total of 232 bacterial isolates, where, in the first group (September/2011 collection) were found 169 bacterial and in the second group (April/2012 collection) were obtained 63 bacterial strains. The estimated size of bacterial populations in the conditions of basal potential (pB) and the potential induced carbon (pC) in the litter (S) and in different depths in soil (P1, P2, P3)

reveals greater diazotrophic bacteria population within the litter fraction and non-detectable populations in different depths. The pC estimations have indicated increased diazotrophic populations throughout the extent of soil analyzed. From the isolated obtained in Group I, 75% presented rod-shaped characteristics and 25% presented sphere-shaped characteristics, 89% were characterized as Gram-negative and 11% as Gram-positive. As for the solubilization of Phosphate and Zinc, 91% and 67% respectively of the bacterial isolation were able to solubilize. In the Second Group, out of the 63 bacterial isolations, 60% of which are rod-shaped and 40% are sphere-shaped, 62% were characterized as Gram-negative and 38% as Gram-positive. As for the solubilization of Phosphate and Zinc, 56% and 41% respectively were able to it. All the isolates, with or without tryptophan, were able to produce indole composites in both groups. The Quantification of IAA ranged from 15.3 to 688.0 μM in medium without tryptophan and from 12.8 to 603.2 μM amidst the presence of tryptophan in group I and from 53.5 to 625.0 μM in medium without 48 and tryptophan, from 0 to 619 μM in the second medium supplemented with tryptophan for group II. The molecular identification of bacteria by sequencing of the gene 16s rDNA resulted in 13 genders distributed in 25 taxa belonging to phyla Proteobacteria (76% of lineage), Firmicute (16%), Actinobacteria (4%) and Bacteroidete (4%). These sequencing data are only related to bacteria from Group II (collection April 2012) and refer to 36% of the total amount of isolates. Results allow us to conclude that rain rates affects quantity and diversity of culture-able microorganism populations, that greater density and taxonomic diversity of heterotrophic bacteria are found in litter and that the system soil-litter of that biome has a high potential for generation of microbial processes and products.

Key words: Biological Nitrogen Fixation, Microbial Diversity, Nutrient Cycling.

1. INTRODUÇÃO

Embora exista um volume relativamente elevado de informações sobre a diversidade vegetal, esta contrasta com os estudos reduzidos sobre a estrutura e diversidade de microrganismos existentes nos solos da Mata Atlântica. Segundo Gonçalves e Diniz (2008) estimasse que na Mata Atlântica encontram-se de dois a treze milhões de espécies de bactérias, microrganismos estes que desempenham papel importante em vários processos responsáveis pela sustentabilidade dos ecossistemas, tais como a ciclagem de nutrientes, promoção do crescimento vegetal por meio da produção de compostos indólicos, solubilização de fontes minerais inorgânicas fosfatadas e zinco, dentre outros. Estes processos são influenciados pela complexidade, heterogeneidade, dinâmica e interação dos diversos fatores físicos, químicos e biológicos do sistema edáfico (Moreira e Siqueira, 2006).

Neste bioma, encontram-se nas Matas de Tabuleiros, um ecossistema estacional dos domínios da Floresta Atlântica associado à de tabuleiros formado por sedimentos terciários e quaternários (cenozóicos) com depósitos arenosos e argilo-arenosos de cores vivas, denominado Formação Barreiras, estendendo-se na costa leste do Brasil, desde a cidade de Cabo Frio até a cidade de Natal, no Rio Grande do Norte (Rabelo, 2007).

Um exemplo deste tipo de ambiente, presente na área de atuação da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), é a Mata do Carvão, elevada ao status de Estação Ecológica de Guaxindiba. Atualmente, restam 1.200

de 6.000 hectares da área original desta mata, devido às atividades agro-açucareiras, a pecuária, a produção de carvão vegetal e a comercialização de madeiras como, por exemplo, das espécies *Aspidosperma* spp., *Copaifera lucens*, *Paratecoma peroba* e *Tabebuia* spp., principalmente ocorridas nas décadas de 60 e 70 (Silva e Nascimento, 2001).

A matéria orgânica tem pronunciada significância para qualidade do solo, face sua ampla influência nas diferentes propriedades químicas, físicas e biológicas. Particularmente importante é sua inter-relação com as comunidades microbianas do solo, atuando por si como nicho ou na estruturação de agregados para estabelecimento de comunidades microbianas e como fonte de compostos orgânicos e minerais para condicionamento da estrutura, diversidade e atividade microbiana do solo (Lopes, 2012).

Em ambientes florestais, a deposição de material orgânico na superfície do solo é um evento chave para a manutenção da produtividade primária nestes ecossistemas. Esta matéria orgânica, oriunda principalmente de estruturas vegetativas e reprodutivas de espécies vegetais presentes na área é conhecida como serrapilheira. A decomposição da serrapilheira mediada, em parte, pela comunidade microbiana do solo, assegura a transferência de nutrientes para o sistema solo-planta e gera matéria orgânica estabilizada, importante para o equilíbrio do ciclo virtuoso que envolve a planta, a serrapilheira, o solo e a comunidade microbiana manifestos em um dos serviços ambientais mais relevantes para a sustentabilidade do planeta terra, a ciclagem de nutrientes. (Bini et al, 2012).

A caracterização microbiológica e dos traços fenotípicos relacionados à promoção do crescimento vegetal são importantes para conhecer e preservar as bactérias presentes no solo, assim como avaliar o potencial dos isolados a fim de desenvolver novas formulações de bioinoculantes destinados a produção agrícola, são fundamentais também nos processos biológicos de bioremediação através da decomposição dos resíduos e na atividade de biocontrole de patógenos (Pereira e Freitas, 2012; Machado et al. 2012). Desta forma, além da caracterização microbiológica e fenotípica testada, a caracterização química do ambiente edáfico que abriga a diversidade e a atividade microbiana foi avaliada, com intuito de relacionar características abióticas com as características de diferentes grupos microbianos.

OBJETIVO GERAL: Ampliar o conhecimento sobre a biodiversidade microbiana e realizar a prospecção de bactérias com potencial biotecnológico associado ao solo e a serrapilheira em quatro parcelas permanentes de um setor, na Estação Ecológica de Guaxindiba, RJ em períodos de tempo distintos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- I. Isolar bactérias diazotróficas e heterotróficas;
- II. Determinar o potencial populacional basal e potencial populacional induzido por carbono-lábil para bactérias presentes no solo e na serrapilheira;
- III. Caracterizar celular e culturalmente as bactérias heterotróficas e diazotróficas presentes na serrapilheira e no solo em estudo;
- IV. Avaliar a capacidade de fixar nitrogênio, solubilizar fósforo, zinco e produzir compostos indólicos dos isolados;
- V. Determinar a taxonômica das bactérias isoladas através da identificação molecular dos isolados (ao menos ao nível de gênero);
- VI. Relacionar os resultados qualitativos e quantitativos obtidos para os grupos microbianos estudados com fatores edáficos em função da profundidade do solo em dois períodos climáticos distintos, após o período de seca e após o período chuvoso.

HIPÓTESE:

Bactérias culturáveis provenientes do Bioma Mata Atlântica podem apresentar características fisiológicas relevantes para seu aproveitamento biotecnológico e sua densidade pode apresentar relações com atributos edáficos e variações sazonais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Biodiversidade microbiana do solo

O estudo e o manejo de tecnologias para análises de componentes biológicos do solo constituem fontes tecnológicas promissoras na agricultura sustentável. Desta forma, estudos sobre a diversidade microbológica são essenciais para uma compreensão mais ampla e definida sobre sua função no ecossistema.

O conceito de qualidade do solo vem sendo discutido mais incisivamente desde a década de setenta, na qual se determinava que um solo considerado bom fosse aquele com elevada fertilidade, ou seja, quanto maior produtividade, maior a qualidade atribuída ao solo. Porém, evoluções conceituais ocorreram e a definição de qualidade do solo não mais se restringe à fertilidade, mas também à abundância e diversidade de organismos (Doran e Zeiss, 2000). Estes autores apontam que existem indicadores empíricos que determinam as potencialidades do solo por meio da presença ou não de plantas, animais, erosão, qualidade da matéria orgânica, compactação do solo, além da atividade de microrganismos, promovendo assim, uma relação entre diversidade microbiana e qualidade do solo.

A avaliação da biodiversidade no solo é uma importante ferramenta para identificação das interações entre microrganismos e plantas, além de esclarecer o equilíbrio destas estruturas no meio em que vivem (Pereira et al., 1996). No

entanto, diversos estudos fazem-se necessários devido à vasta e desconhecida estrutura e inter-relações funcionais entre as comunidades microbianas.

Estes microrganismos representam uma ampla diversidade química e molecular existente no meio ambiente, onde estabelecem uma base para os sistemas ecológicos, como os ciclos biogeoquímicos e a cadeia trófica. Membros da comunidade microbiana sofrem não apenas mudanças proporcionadas por suas atividades metabólicas e fisiológicas, como também estão sujeitos a interferências físicas e químicas do meio que o circunda (Hunter-Cevera, 1998).

Estudos da diversidade e estrutura microbiana envolvem o emprego de ensaios biológicos e químicos, dos quais podem ser citados: contagem direta de células com o auxílio da microscopia de epifluorescência, utilizando fluorocromos não específicos (p.ex, DAPI), contagem de colônias em placas de Petri contendo diferentes meios de cultura, e métodos moleculares, utilizando DNA genômico. Mais recentemente, uma gama de métodos moleculares tem permitido avançar significativamente no conhecimento sobre táxons e funcionalidades microbianas através de técnicas que incluem a investigação de parte da sequência do DNA, como do gene 16S rDNA em bactérias e 18S rDNA em fungos, que é amplificado por PCR (reação em cadeia da polimerase) e, subsequentemente, caracterizado através da clonagem e sequenciamento ou então analisado por eletroforese, através das técnicas de ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis), T-RFLP (Terminal Restriction Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Amplification), DGGE/TGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis/Temperature Gradient Gel Electrophoresis) e SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) (Ranjard et al., 2000; Kozdrój e Van Elsas, 2001).

2.2. Diversidade funcional de microrganismos no solo

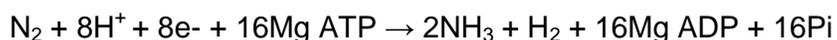
Compreende-se por diversidade funcional o conjunto de processos e serviços desempenhados pelos microrganismos no solo (Kennedy, 1999). É importante elucidar o papel, as potencialidades e as relações dos microrganismos em um dado bioma, devido ao conhecimento incipiente sobre diversidade estrutural e funcional desses micróbios (Zilli et al, 2003). Exemplos destes

processos incluem fixação biológica do nitrogênio (FBN), ciclagem de nutrientes, solubilização de fósforo e zinco, dentre outros processos.

2.2.1. Fixação Biológica de Nitrogênio

O nitrogênio é um elemento essencial para a constituição de biomoléculas importantes como ATP, NADH, NADPH, proteínas, ácidos nucleicos, clorofila e uma série de enzimas (Miflin e Lea, 1976; Harper, 1994). Embora sua concentração na atmosfera seja de aproximadamente 78% na forma de nitrogênio atmosférico (N₂), as plantas não são capazes de absorvê-lo e incorporá-lo ao seu metabolismo como ocorre com outras moléculas, devido à elevada estabilidade da ligação tripla entre os átomos de nitrogênio (Döbereiner, 1997; Dalla Santa et al., 2004, Sabino, 2007).

O fornecimento de nitrogênio às plantas, nas formas absorvíveis, nítrica (NO₃⁻) ou amoniacal (NH₄⁺) provém, principalmente, da aplicação de fertilizantes químicos nitrogenados e/ou da fixação biológica do N₂ (FBN) (Dalla Santa et al., 2004). A FBN é o processo pelo qual o N₂, forma molecular inerte, é transformado em íon amônio (NH₄⁺) de acordo com a equação abaixo. Os microrganismos responsáveis por tal conversão são denominados diazotróficos, um grupo específico de procaríotos que possuem o complexo enzimático nitrogenase que catalisa a reação (Simpson e Burris, 1984).



Os microrganismos diazotróficos podem ser classificados em três grupos: os que vivem livres no solo, os associativos que fixam nitrogênio sem provocar mudanças na estrutura na planta hospedeira e os diazotrófos simbióticos, que estimulam a formação de estruturas diferenciadas, denominado nódulos (Marin, 1999). Segundo Kuss (2006), os organismos de vida livre compreendem aqueles que necessitam de um ambiente com disponibilidade de carbono utilizável para a realização do processo de FBN, sendo caracterizados heterotróficos (Marin, 1999). Na rizosfera, região limítrofe do solo com o sistema radicular, rica em compostos de carbono e nutrientes, há uma alta competição entre estes microrganismos. Exemplos de organismos de vida livre incluem representantes

dos gêneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Beijerinckia*, *Azomonas* e *Azotobacter* (Kuss, 2006; Becking, 1991; Döbereiner e Ruschel, 1958).

O grupo de microrganismos classificados como associativos, também reconhecidos como endofíticos, tem por definição aqueles que colonizam o interior das plantas, sem causar sintomas e que podem ser isolados de tecidos vegetais superficialmente desinfestados (Kloepper et al., 1997). Bactérias diazotróficas que estabelecem associação endofítica do tipo obrigatória são genericamente conhecidas como rizóbios, estabelecem uma eficiente associação simbiótica com leguminosas, por meio de estruturas especializadas chamadas nódulos em raízes e caules do hospedeiro (Stroschein, 2007; Hungria et al., 2007).

O trabalho de Xavier (2006) exemplifica o potencial benéfico que a FBN possui na produção sustentável da cana-de-açúcar, no qual a atividade mediada por microrganismos fixadores de nitrogênio no sistema solo planta, associados ao manejo adequado e a utilização de variedades de cana-de-açúcar eficientes para FBN possam reduzir ou até mesmo eliminar a adubação química nesta cultura.

2.2.2. Solubilização de fósforo

O fósforo é um macronutriente fundamental por compor moléculas de DNA e RNA responsáveis pela transmissão de informações genéticas. Além disso, apresenta papel importante no ecossistema por constituir moléculas que exercem funções metabólicas e de transferência de energia como o ATP (Ferreira et al., 2011; Nahas, 1991).

Para Barber (1995), o fósforo presente no solo pode ser dividido em quatro categorias, dentre as quais podem ser citadas: (i) o fósforo na forma iônica e em compostos na solução no solo; (ii) fósforo adsorvido nas superfícies dos constituintes minerais presentes no solo; (iii) minerais cristalinos e amorfos de fósforo e (iv) o presente na matéria orgânica (P-orgânico).

A maior reserva de fósforo encontra-se na matéria orgânica, nas rochas, apatitas, e em outros minerais (Cerigioli, 2005), no entanto, devido à sua baixa mobilidade, a disponibilidade na solução do solo é bastante limitada. Muitos destes materiais fosfatados possuem massa molecular elevada, necessitando ser primeiramente convertido a formas iônicas solúveis (fósforo inorgânico: HPO_4^{2-} ,

H₂PO₄⁻) ou fosfato de baixo peso molecular para então serem assimilados pelas células (Goldstein, 1994).

Segundo Khan et al. (2006), na interface solo-planta, a microbiota exerce um papel essencial nos processos de mineralização e solubilização por meio de enzimas fosfatases (Rodríguez e Fraga, 1999), fitases (Nahas, 2002) e ácidos orgânicos, tornando-os, desta forma, disponíveis aos vegetais.

Dentre as formas de solubilização de fósforo inorgânico, a liberação de ácidos orgânicos sintetizados pelos microrganismos do solo consiste no principal mecanismo. Dentre tais ácidos, o ácido glucônico parece ser o agente mais frequente na solubilização mineral deste macronutriente (Rodríguez et al., 2006). Outros ácidos orgânicos, tais como ácido láctico, oxálico, malônico, pirúvico, tartárico e succínico, também, são destacados como solubilizadores de fosfato (Whitelaw et al., 1999; Reyes et al., 2001). Diversos gêneros bacterianos são importantíssimos nesta conversão para fósforo disponível aos vegetais, dos quais podemos citar *Pseudomonas* (Gügi et al., 1991), *Bacillus*, *Delftia*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Phyllobacterium* (Chen et al., 2006), *Rhizobium* (Abd-Alla, 1994), *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Escherichia* (Thaller, 1995) enquanto nas populações fúngicas, se destaca os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (Vassilev et al., 1996).

A estimativa da capacidade de solubilização de fosfato por parte destes microrganismos acima citados, tem sido possível através de métodos de cultivo em placas, no qual áreas ao redor das colônias de microrganismos em meios contendo fosfatos minerais insolúveis como única fonte de P se diferenciam, podendo ser observadas através da formação de zonas claras (Rodríguez e Fraga, 1999, Nautiyal, 1999, Vazquez et al., 2000, Pérez et al., 2007).

Mesmo sendo considerado um método de confiança para o isolamento e caracterização preliminar de microrganismos solubilizadores de P (Mehta e Nautiyal, 2001), Gupta e colaboradores (1994), aperfeiçoaram o procedimento com a inserção de azul de bromofenol ao meio. Os halos amarelados formados são provenientes da queda do pH produzido pela liberação de ácidos orgânicos, responsáveis pela solubilização de fosfato.

A atividade solubilizadora de *Burkholderia cepacia* foi avaliada em três tipos de fosfatos insolúveis, indicando que a solubilização de fosfato de cálcio e de fosfato de hidroxiapatita foi mais intenso em comparação

ao fosfato de alumínio. Análises cromatográficas indicam que esta atividade se dá pela queda do pH por meio do ácido glucônico liberado por esta estirpe (Song et al., 2008). O trabalho de Intorne et al. (2009) comprova a participação destes compostos na solubilização de fósforo através de mutantes de *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Pal 5), identificando o gene PQQ da estirpe selvagem envolvido na conversão de glucose em ácido glucônico.

Desta forma, um maior entendimento da capacidade e da eficiência dos microrganismos em solubilizar diferentes fosfatos, pode nos levar à prospecção de isolados com alto potencial de mineralização para compor inoculantes capazes de fornecer P-lábil para as plantas (Souchie et al., 2005).

2.2.3. Solubilização de zinco

Os efeitos biológicos na mobilidade dos metais como o fósforo e o zinco no solo resultam da comunicação imediata com os microrganismos através da solubilização indireta que ocorre pela reação de um produto do metabolismo microbológico ou pela mudança no solo, provocada por estes micróbios (Costa et al., 2002).

O zinco no solo está presente em três frações: (i) Zn solúvel em água (Zn^{2+} e frações orgânicas solúveis); (ii) os adsorvidos na fração coloidal (associados a argila, compostos húmicos e hidróxidos de Al e Fe) e (iii) complexos insolúveis de Zn e minerais (Broadley et al., 2007).

Sua distribuição nos solos depende de diversos fatores, como o tipo de solo, pH, tipos de argila, regiões geográficas, taxa de intemperismo, qualidade da matéria orgânica e a biota ativa. Todos estes fatores podem afetar a distribuição de Zn no solo (Pereira et al., 2007, Broadley et al., 2007). Entretanto, a concentração na solução do solo é geralmente muito baixa, encontrando-se mais de 90% deste zinco na fração insolúvel, estando desta forma, pequenas frações disponíveis a nutrição vegetal (Broadley et al., 2007).

No trabalho de Saravanan et al. (2007), *Gluconacetobacter diazotrophicus* estirpe PAL 5 exibiu maior halo de solubilização quando testadas em um ensaio em placa com Zn metálico, quando comparado com cloreto de zinco ($ZnCl_2$). Análises de espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier indicaram como um dos agentes de solubilização do Zn metálico, o ácido

glucônico. A estirpe de *Pseudomonas aeruginosa*, isolada de amostras de solo, foi capaz de solubilizar óxido de zinco e fosfato de zinco em meios contendo glicose através da observação de zonas claras ou halos em torno das colônias (Fasim et al. 2002). Em Baldoto (2009), foram testadas 20 estirpes de bactérias diazotróficas quanto a sua capacidade de solubilizar óxido de zinco e dentre estas estirpes, cinco delas formaram um halo de solubilização, sendo a estirpe UENF 118501b, aquela que apresentou maiores valores em torno de 11,22 mm de diâmetro.

Assim, a seleção e inoculação de bactérias solubilizadoras de zinco pode ser útil na conversão em formas assimiláveis, tornando-os disponível ao sistema do solo, proporcionando ganhos a produção agrícola e a nutrição do solo e planta.

2.2.4. Produção de fitormônios

As bactérias rizosféricas podem também influenciar no desenvolvimento das plantas por meio da produção de fitormônios (Junior et al., 2009). Os hormônios vegetais (citocinina, giberelina, etileno e auxina) são reguladores naturais de crescimento e desenvolvimento das plantas, apresentando a capacidade de interferir nos processos fisiológicos em baixas concentrações (Marchioro, 2005).

Dentre os hormônios vegetais, temos a auxina, um regulador do crescimento vegetal. Dentre as auxinas, a mais conhecida é o ácido indol acético (AIA), reconhecido por provocar efeitos rápidos na estrutura vegetal que envolve as taxas e orientação da divisão, o alongamento e a diferenciação celular (Dobbelaere et al., 2003), que afetam o programa genético de modelagem corporal dos vegetais.

Além da produção nos tecidos vegetais, a síntese de AIA é creditada a bactérias associadas à planta (Spaepen et al., 2007), as quais influenciam diversos mecanismos que alteram o programa genético de crescimento e desenvolvimento da planta. Várias rotas metabólicas foram reportadas para a biossíntese de AIA em bactérias, porém o triptofano tem sido destacado como um precursor fisiológico para a biossíntese de auxinas em microrganismos e plantas (Spaepen et al., 2007; Lambrecht et al., 2000, Radwan et al., 2004). Os exsudados radiculares são fontes naturais do aminoácido triptofano (Lum e

Hirsch, 2003) para os microrganismos presentes no solo, favorecendo o aumento da biossíntese microbiana de auxina na rizosfera. Vários estudos indicam que os microrganismos estão ativamente envolvidos na síntese de auxinas, tanto em meio de cultura como no solo (Zimmer e Bothe, 1988, Sottero, 2006, Ahmad, 2005).

A biossíntese de AIA é importante no crescimento e desenvolvimento de plantas, e pode ser usado como um dos critérios para a seleção de microrganismos eficazes na promoção do crescimento vegetal (Ali et al., 2008). Neste sentido, microrganismos que sintetizam AIA são considerados importantes promotores de crescimento vegetal, podendo melhorar o rendimento das culturas vegetais (Arkhipova et al., 2005).

No trabalho de Patten e Glick (2002), em que foi realizada inoculação de *Pseudomonas putida* selvagem e deficiente para produção de ácido indol acético em raízes de canola, foi observado que o crescimento das raízes inoculadas com a estirpe selvagem teve um aumento de 35 a 50 % em relação à planta inoculada com a bactéria mutante e ao controle (não inoculado), demonstrando a importância que o AIA bacteriano exerce sobre as taxas de crescimento das raízes de plantas.

2.3. Matéria orgânica no solo

Ao longo da história, a definição de matéria orgânica apresentou caráter enigmático. Significados como terra, solo, argila e horizonte foram atribuídos à palavra húmus até que este fosse considerado um termo precursor para o atual significado da matéria orgânica, com base nas definições de Thaër (1856) em “Principles of Rational Agriculture” (Manlay et al., 2006).

A matéria orgânica do solo (MOS) é definida, segundo Stevenson (1994), como uma mistura de compostos em etapas variadas de decomposição, resultantes da degradação biológica de resíduos vegetais e animais. Silva e Mendonça (2007), por sua vez, definiram MOS como a fração do solo que compreende todos os organismos vivos nele presentes e seus restos em diferentes graus de decomposição.

A fração húmica da matéria orgânica é considerada um componente fundamental para o ecossistema, pois está envolvida em diversas reações

químicas no ambiente edáfico (Stevenson, 1994). Nele, a matéria húmica atua na sua estruturação, formação de quelatos com metais pesados, adsorção de pesticidas e no processo de assimilação de nutrientes pelos vegetais (Canellas e Santos, 2005; Trevisan et al., 2010).

A percepção da complexidade da MOS tem direcionado muitos estudos científicos sobre os processos ecológicos, biológicos e físico-químicos por elas governados. Avanços no conhecimento sobre a diversidade de seus componentes, as vias de transformação e estabilização levaram a uma compreensão ampliada da natureza química, estrutural e funcional de suas frações (Pillon et al., 2002).

Com relação à estabilização, a MOS pode ser dividida em fração leve ou lábil, cujo processo de decomposição é ativo, e fração humificada ou estável, compostas por substâncias húmicas e outras macromoléculas orgânicas resistentes à atividade microbiana. Estas frações húmicas desempenham papel importante na fertilidade dos solos (Abbruzzini, 2011).

A MOS cumpre uma série de funções cuja importância está intimamente relacionada aos diferentes tipos de solo, clima e manejo da terra. Sua contribuição para a fertilidade, produtividade e sustentabilidade de ecossistemas agrícolas é indubitavelmente relevante (Craswell e Lefroy, 2001; Tiessen E Shang, 1998). Destacamos seu papel como uma das principais fontes de energia e nutrientes ao ecossistema, capaz de manter a produtividade dos solos em geral. Dentre os benefícios gerados pela MOS, tem-se a melhoria das condições físicas do solo e o fornecimento de energia para o crescimento microbiano (Silva e Resck, 1997), o que reflete em maior ciclagem de nutrientes e aumento da CTC (capacidade de troca catiônica) do solo (Paes et al., 1996).

As principais características químicas do solo afetadas pela MOS são a CTC, a disponibilidade de nutrientes como nitrogênio, enxofre e boro para as espécies vegetais cultivadas e a complexação de elementos tóxicos e micronutrientes (Bayer e Mielniczuk, 2008). No que diz respeito à CTC do solo, a matéria orgânica é, por vezes, a principal representante desta característica. A fração húmica da MOS é atribuída à elevada concentração de grupos carboxílicos, capazes de promover a retenção de nutrientes e conseqüentemente, reduzir a lixiviação destes (Bayer e Mielniczuk, 2008).

A disponibilidade de nutrientes para a solução do solo pode ser afetada pela presença de compostos orgânicos como fosfatases ácidas que solubilizam pequenas fontes de fósforo presentes no solo, fitossideróforos queladores de íons metálicos como Fe^{++} e Zn^{++} , além de mucilagens que reduzem a concentração de íon Ca^{2+} na solução do solo, evitando a complexação de fósforo em pH elevado (Marschner, 1993).

A habilidade complexante apresentada pela MOS também é atribuída a grupos funcionais reativos oxigenados tais como carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas, presentes na estrutura molecular húmica (Stevenson, 1972). Estudos realizados por Jordão et al. (1993), avaliou o comportamento de metais Cu, Cd, Pb, Zn e Co na presença de ácidos húmicos extraídos de solo, em diferentes valores de pH. Os resultados obtidos demonstraram que, em pH 8,5, 99% do Cu foi retido pelos sítios de ligação das macromoléculas orgânicas, e que em pH 4,5, próximo àquele apresentado naturalmente pelo solo em estudo a preferência de retenção dos metais pelos ácidos húmicos foi Pb, Cu, Co, Ca e Zn.

Quanto aos efeitos físicos, a agregação é a principal característica do solo influenciada pela matéria orgânica e resulta do arranjo das partículas primárias do solo, mantida por agentes cimentantes como argilas e matéria orgânica (Lima et al., 2003; Salton, 2005). Solos bem agregados apresentam maior porosidade quando comparados àqueles pobres em agregação, resultando numa melhor capacidade de infiltração de água da chuva, favorecendo a troca gasosa entre o solo e a atmosfera e com isso atividades microbiana como a nitrificação, por exemplo. De forma geral, solos bem estruturados conferem melhores condições para o desenvolvimento das plantas, principalmente por oferecem menores restrições mecânicas ao desenvolvimento da raiz e emergência da planta (Dufranc et al., 2004). Os demais efeitos de ordem física como aeração, porosidade, densidade e capacidade de retenção de água, resultam indiretamente da agregação (Bayer e Mielniczuk, 2008).

Em relação aos efeitos biológicos, a MOS funciona como fonte primária de energia e nutrientes para muitos organismos do solo, funcionando como uma força motriz para a atividade biológica. Microrganismos quimioheterotróficos utilizam essa energia para mineralização de nitrogênio e enxofre presentes no solo (Bayer e Mielniczuk, 2008).

A MOS ainda pode interferir nas características biológicas do solo por meio da presença de exsudatos orgânicos rizodepositados. Estes exsudatos podem ser ácidos orgânicos, açúcares, compostos fenólicos, aminoácidos, fitosideróforos, mucilagens e ectoenzimas. Tais substâncias podem estimular a comunidade microbiana, levando à fixação biológica do N atmosférico por diazotróficos e à produção de substâncias reguladoras do crescimento vegetal (Marschner, 1993).

2.4. Interação entre matéria orgânica e microrganismos do solo

Os ecossistemas possuem dois compartimentos fundamentais nos processos de ciclagem de nutrientes: os produtores e os decompositores (Gonçalves e Diniz, 2008). No primeiro compartimento encontram-se as plantas vasculares e no outro compartimento os fungos, bactérias e outros microrganismos. A co-dependência entre estes compartimentos provém da interação entre os produtores que fornecem compostos orgânicos ao sistema e aos microrganismos decompositores que, por sua vez os convertem em moléculas mais simples e inorgânicas que servirão para a nutrição dos próprios vegetais (Naeem et al., 2000). Assim, além da atividade de mineralização e solubilização dos nutrientes que os microrganismos dispõem as plantas, parte dos compostos simples provenientes da matéria orgânica é utilizada pelo próprio metabolismo microbiano, o que eleva a biomassa no solo e imobiliza parte destes nutrientes, funcionando como um reservatório temporário (Schloter et al., 2003).

Embora escassos, os estudos sobre a ciclagem de nutrientes e processos biogeoquímicos são essenciais à compreensão do funcionamento de ecossistemas (Schlesinger, 1997), pois através do entendimento desta dinâmica de nutrientes, podem-se obter informações sobre a distribuição de elementos no sistema e inferir sobre os fluxos de nutrientes entre os diferentes compartimentos (Golley, 1996; Jordan, 1985). Como destaca Parron (2004), nos ecossistemas tropicais encontra-se grande biodiversidade, e o entendimento do fluxo de nutrientes e energia que ocorrem no solo, serrapilheira e raízes podem proporcionar uma maior compreensão sobre a mineralização dos nutrientes e a relação das comunidades com o ambiente, sendo a serrapilheira a grande

representante da transferência de nutrientes das plantas ao solo em ecossistemas florestais (figura 1) (Cunha et al., 1993; Brun, 2004; Vogel, 2012).

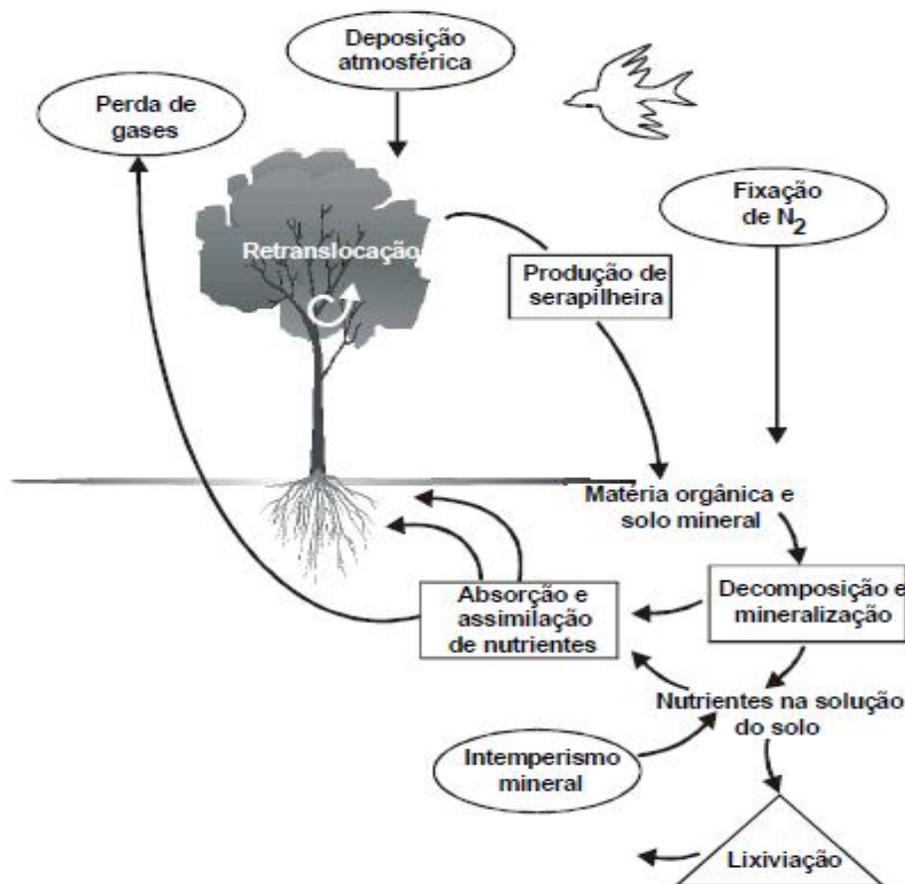


Figura 1: Ciclagem de nutrientes em floresta tropical (de acordo com Schlesinger, 1997).

Cardoso et al., (2009) afirmam que ambientes de floresta nativa, com solos de baixa fertilidade natural, têm sua manutenção fortemente associada ao equilíbrio entre a cobertura vegetal e os processos biogeoquímicos do solo, processos estes mediados por microrganismos presentes no solo. A biomassa microbiana, segundo Gama-Rodrigues et al. (2005) e Barreto et al. (2008), interfere diretamente no ciclo do carbono e nitrogênio e representa um importante reservatório de nutrientes nos solos e fonte para o estudo de ciclagem de nutrientes, em diferentes ecossistemas, além de representar um importante indicador do grau de perturbação dos biomas (Cardoso et al., 2009, Peña et al., 2005). O tamanho e a atividade desta comunidade microbiana determinarão a

intensidade que os processos bioquímicos irão acontecer (Vargas e Scholles, 2000).

O trabalho de Lisboa et al. (2012) analisou diversos atributos microbianos, como a atividade das enzimas β -glicosidase, urease, fosfatase ácida e arilsulfatase, juntamente com a determinação da atividade respiratória e da biomassa microbiana do solo, a fim de avaliar a qualidade de um solo na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Este solo foi submetido a diferentes sistemas de preparo (convencional e plantio direto) e de culturas em relação a um sistema referência, considerado como condição original do solo para a realização de comparações entre os diferentes manejos, indicando que a microbiota pode ser considerada um bioindicador da qualidade do solo.

Um exemplo mais explícito das inúmeras vertentes que envolvem o aproveitamento tecnológico da interação entre microrganismos e a matéria orgânica está refletida no trabalho de Ndaw et al. (2011), que avaliaram o efeito da inoculação da bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (Z67) na presença de ácidos húmicos (AH) sobre a comunidade bacteriana nativa da rizosfera e no interior das raízes de milho, onde se verificou que em plantas inoculadas na presença de ácidos húmicos (AH) tiveram um aumento no número de bactérias diazotróficas nativas tanto no solo rizosférico como nas raízes lavadas, em relação ao controle, destacando a relação existente dos materiais orgânicos com a microbiota presente no solo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização da área de estudo e amostragem

A Estação Ecológica de Guaxindiba, regionalmente conhecida como Mata do Carvão, localiza-se na propriedade da Fazenda São Pedro (21°24' S e 41°04' W), no município de São Francisco do Itabapoana, ao Norte do Estado do Rio de Janeiro. A Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba foi criada no final de 2002 para proteger o maior remanescente contínuo de Mata Estacional Semidecidual de todo o estado do Rio de Janeiro. É o último remanescente da Mata Atlântica localizado no domínio dos tabuleiros costeiros do Nordeste Fluminense. O clima é classificado como Aw, de acordo com Köppen (1948). Possui uma precipitação média anual de aproximadamente 1000 mm e solo classificado como Argissolo amarelo álico de alta granulometria, baixa capacidade de retenção de água e pobre em nutrientes (Villela et al., 2006).

As coletas foram conduzidas mediante a autorização para atividades com finalidade científica em unidade de conservação, sob nº E-07/507.637/2011 (específica para a Estação Ecológica de Guaxindiba), expedida pela Fundação Instituto Estadual de Florestas do Rio de Janeiro (atualmente Instituto Estadual do Ambiente – INEA).

Foram selecionados quatro pontos de coleta referenciados, designados AM1 (21°42'99" S e 41°08'40.3"); AM2 (21°41'91.5" S e 41°08'41.4"); AM3 (21°41'92" S e 41°08'20.3"); e AM4 (21°41'87.4" S e 41°08'30.7") (figura 2); dentro de um setor preservado da mata com área total de 2500 m², onde vem

sendo conduzidos uma série de estudos, envolvendo composição florística, estrutura de comunidades vegetais e eventos de sucessão vegetal, bem como, estudos de anatomia e fisiologia vegetal para diferentes famílias botânicas na área (Rabelo et al., 2007,; Archanjo et al., 2009).



Figura 2: Imagem de satélite dos quatro pontos referenciados da Estação Ecológica de Guaxindiba, onde os estudos se desenvolveram.

O presente estudo é parte integrante de um projeto aprovado no edital de Apoio ao Estudo da Biodiversidade (Biota/FAPERJ), que propõe um trabalho inicial de bioprospecção de grupos microbianos específicos do solo, a saber, bactérias, fungos nematófagos e nematoides entomopatogênicos, associados à caracterização do ambiente edáfico e na química da matéria orgânica.

O esquema de amostragem em cada local foi baseado em gabaritos de 30 por 30 cm, dos quais foram coletadas a serrapilheira (S), e amostras do perfil do solo em três profundidades (P1: 0-10; P2: 10-20; P3: 20-40 cm) em dois períodos distintos, um período seco (setembro-2011) e período chuvoso (abril-2012), como demonstrado pela precipitação pluviométrica na figura 3 . As amostras de solo para as diversas finalidades foram coletadas com auxílio de um trado. Para cada ponto, as subamostras foram colocadas em sacos plásticos, homogêneas e estocadas a 4 °C até o seu processamento, representando quatro pontos de coleta por período (quatro repetições).

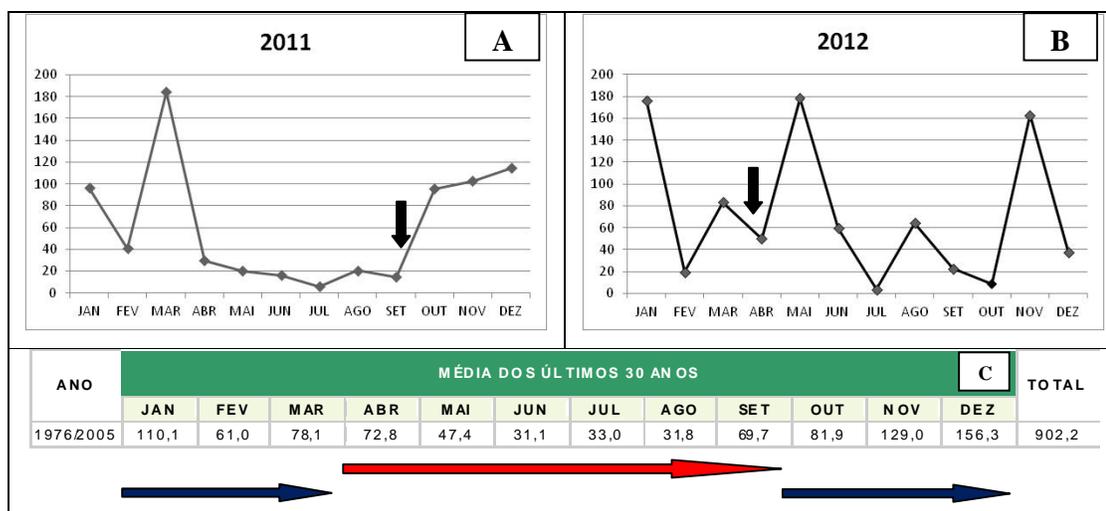


Figura 3: Precipitação pluviométrica (expressa em mm) observada no posto climatológico do campus Dr. Leonel Miranda (Campos dos Goytacazes- RJ). (A) Série mensal no ano de 2011 com precipitação total acumulada de 741,6 mm; (B) Série mensal no ano de 2012 com precipitação total acumulada de 868,2 mm; em (C) é possível observar a média de precipitação mensal nos últimos 30 anos. (as setas indicam o período de coleta)

3.2. Isolamento das bactérias diazotróficas e não diazotróficas

Para o isolamento das bactérias diazotróficas, foi utilizado o método das diluições seriadas para a serrapilheira e para o solo em 03 profundidades (0-10 cm (P1), 10-20 cm (P2) e 20-40 cm (P3)).

Na serrapilheira, 1 g das amostras foi transferido para tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina (8,5 g/L de NaCl) e para P1, P2 e P3 foram transferidos 10 g da amostra do solo para recipientes de vidro (volume de 100 mL) contendo 90 mL de solução salina. Todas estas diluições foram realizadas para as diferentes amostras (04 pontos), totalizando 16 tratamentos para o período seco e 16 tratamentos para o período chuvoso. Em seguida, os tubos de ensaio e os recipientes de vidro foram submetidos a agitação por 1/2 hora em agitador orbital a 170 rpm. Depois, foram feitas diluições seriadas em tubos de ensaio, contendo um volume de 9 mL de solução salina. As diluições vão de 10^{-2} a 10^{-6} , transferindo-se sucessivamente 1 mL da suspensão, com pipetas automáticas ou graduadas, de cada diluição, para outros tubos de solução salina. De cada uma das diluições, alíquotas de 100 μ L foram inoculadas na parte central dos vidros de penicilina (vol. 16 mL) contendo 5 mL dos meio semi-sólidos JNFB

e LGI (livres de N, Döbereiner et al., 1995). A composição do meio JNFB semi-sólido em 1L consiste de: 5g de ácido málico, 5 mL de K_2HPO_4 (sol. 10%), 2 mL de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (sol. 10%), 1 mL de NaCl (sol. 10%), 2 mL de $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (sol. 1%), 4 mL de FeEDTA (sol. 1,64%), 2 mL de azul de bromotimol (sol. 0,5% em 0,2N de KOH), 2 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, 1 mL de vitamina para meio de cultura, 4,5 g de KOH e 1,6 g de agar; pH de 6,5. A composição do meio LGI semi-sólido consiste de: 5g de açúcar cristal, 2 mL de K_2HPO_4 (sol. 10%), 6 mL KH_2PO_4 (sol. 10%), 2 mL $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (sol. 10%), 2 mL $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (sol. 1%), 2mL $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ (sol. 0,1%), 1 mL $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (sol. 1%), 5 mL Azul de bromotimol 0.5% em 0.2 N de KOH, 1 mL de vitamina para meio de cultura e 1,8g de Agar. Completou-se o volume para 1000 mL com H_2O destilada. O pH foi ajustado para 6.0-6.2 com H_2SO_4 sol.5%.

A avaliação da fixação de N_2 foi realizada após serem incubadas na estufa a, aproximadamente, 30 °C por uma semana. Após este período, visualizou-se a presença ou não de película aerotóxica que se forma na parte superior do vidro de penicilina, contendo o meio isento de nitrogênio. Os microrganismos que cresceram, ou seja, os que formaram películas neste meio, foram transferidos para placas de Petri, contendo o meio sólido Nutrient Broth (NB) na composição de (0,8 g/L) de caldo nutritivo com o auxílio da alça de platina. Acrescentou-se 15 g de ágar para cada litro deste meio de cultura. Não é necessário ajustar o pH da solução. A seguir, foram purificados até que se obtiveram culturas puras e, seguidamente, estocadas em tubos eppendorf com 1 mL de água destilada, previamente autoclavadas.

No isolamento das bactérias não diazotróficas para os dois períodos diferentes (seco e chuvoso), foram transferidos para placas de Petri, aproximadamente, 20 mL do meio NB. Após sua secagem no fluxo laminar sob luz ultravioleta por 15 minutos, uma alíquota de 100 μ L das diluições 10^{-5} e 10^{-6} de todas as amostras foram semeadas com o auxílio da alça de Drigalski sobre toda a superfície das placas. Após três dias de incubação na estufa a 30 °C, os isolados foram purificados até que se obteve culturas puras e, seguidamente, estocadas em tubos eppendorf com 1 mL de água destilada previamente autoclavadas. Posteriormente, foram determinadas as densidades populacionais e as características morfológicas das colônias formadas após estes passos sucessivos de purificação.

3.3. Quantificação da população basal e carbono induzido de bactérias fixadoras de nitrogênio e não fixadoras nas diferentes amostras de solo

A determinação da população de diazotróficos e não fixadoras nas diferentes amostras de solo foram realizadas, baseando-se na quantificação da população na ausência de estímulo (potencial populacional basal de diazotróficos) e com a adição de um coquetel de fontes de carbono (potencial populacional induzido).

Para determinação da população de diazotróficos nas amostras de solo na ausência de estímulo (potencial populacional basal de diazotróficos), 1 g da serapilheira e 10 g das diferentes profundidades (0-10 cm, 10-20 cm e 20-40 cm) foram diluídas e processadas como descrito no item 3.2. O meio de cultura utilizado para estimativa da população foi o meio JNFB e LGI. Após a inoculação, os frascos foram colocados em estufa a 30⁰ C por um período de sete dias. Após este período, foi realizada a avaliação quanto à presença de crescimento típico de bactérias fixadoras de N₂, caracterizado pela formação de uma película branca na superfície do meio. O número populacional foi obtido com o uso da tabela de McCrady com cinco repetições por diluição, tomando-se por base o número de repetições com formação de película em cada diluição (Döbereiner et al., 1995). Na quantificação das colônias bacterianas sem estímulo (basal) formadas em meio sólido NB, a contagem foi expressa por unidade formadora de colônia (UFC/ml) em todas as amostras e profundidades do solo.

Para determinação do potencial populacional substrato de C-induzido de diazotróficos, 1 g de serrapilheira e 10 g de P1, P2 e P3 nas 04 amostras foram armazenadas em potes de plástico esterilizados e vedados e foram incubadas em estufa por 24 horas a 30 °C, após aplicação de uma solução contendo três fontes de carbono na concentração final de 1 % (glicose, manitol, glicerol) esterilizada por filtração em membrana de nitrocelulose miliporeTM de diâmetro de 0,22 µm de diâmetro de poro, distribuídas homoganeamente sobre a superfície. Decorrido o período de incubação, alíquotas foram diluídas seriadamente e inoculadas em meio JNFB e LGI semi-sólido para estimativa de densidade populacional de diazotróficos conforme descrito para a determinação da população basal Döbereiner et al. (1995). Na quantificação das colônias bacterianas (não

diazotróficas) com estímulo (carbono induzido) formado em meio sólido NB, a contagem foi expressa por unidade formadora de colônia (UFC/ml) em todas as amostras e profundidades do solo.

3.4. Caracterização morfológica e cultural dos isolados

Os isolados obtidos no item 3.3 foram caracterizados de acordo com a morfologia da célula e da colônia. As colônias foram caracterizadas quanto à coloração e à morfologia. Na morfologia, foi considerado o tamanho (menor que 1 mm, puntiforme, maior que 1mm), forma (circular ou irregular), elevação (plana, lente, convexa, pulvinada, umbonada, umbilicada), bordo (ondulado, lobado, denteado, filamentosos, inteiro) e superfície (lisa, rugosa, papilada) (Perin, 2003).

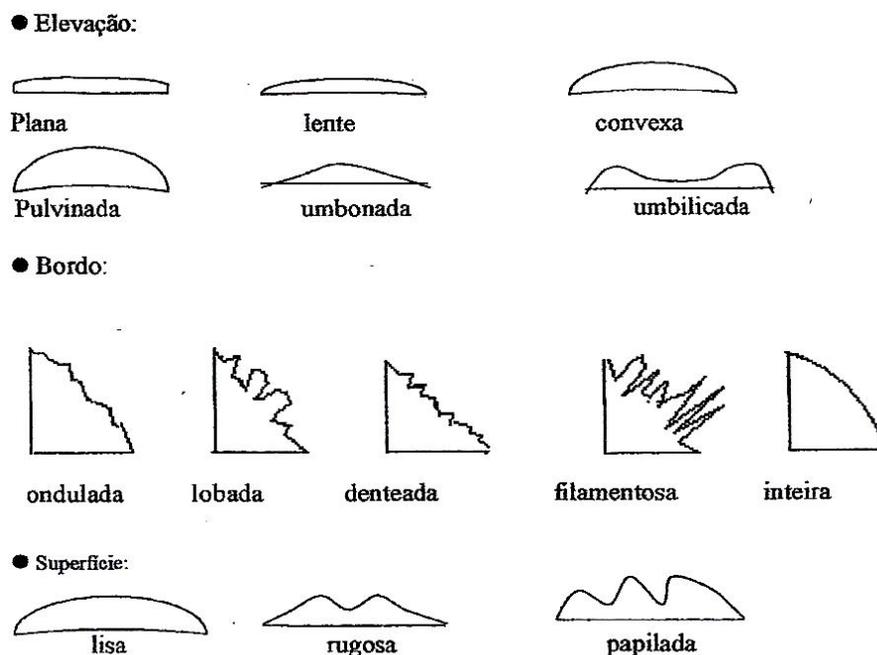


Figura 4: Caracterização morfológica das colônias bacterianas, de acordo com a elevação, bordo e superfície (Adaptado de Perin, 2003).

Para avaliar a coloração de Gram, esfregaços bacterianos em lâminas de microscopia foram obtidos de acordo com a seguinte metodologia: foram imersos por um minuto em solução de cristal violeta; lavado com água destilada; depois foi adicionada solução fixadora lugol por um minuto, seguido da descoloração em etanol/acetona 1:1. A seguir, foi realizada a lavagem em água destilada e

adicionado à solução de safranina sobre o esfregaço, por um período de 30 segundos, e então, lavado com água destilada. A lâmina preparada foi observada em objetiva de 100X sob óleo de imersão em microscópio óptico Axioplan-Zeiss, acoplado a uma câmara fotográfica digital Canon Paner Shot A 640 e a aquisição das imagens foram feitas por meio do programa Zoom Browser EX. As bactérias Gram-positivas foram identificadas pela coloração azulada e as Gram-negativas pela coloração avermelhada.

3.5. Determinação de traços fenotípicos para promoção do crescimento

Para determinação da capacidade de solubilização de fosfato, as bactérias foram crescidas em tubo de ensaio contendo o meio líquido DYGS por 24 horas, a 30 °C e 170 rpm. A composição do meio DYGS (Döbereiner, et al., 1995) em 1 L consiste de: 2 g de glicose, 2 g de ácido málico, 1,5 g de peptona bacteriológico, 2 g de extrato de levedura, 0,5 g de K_2HPO_4 , 0,5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1,5 g de ácido glutâmico, pH 6,0 (Baldani, 1996). Com o auxílio de uma pipeta automática, alíquotas de 2 μ L foram retiradas das soluções bacterianas e colocadas em placas de Petri com meio de cultura sólido (Verma et al., 2001) contendo 10 g L⁻¹ de glicose, 5 g L⁻¹ de cloreto de amônio (NH_4Cl), 1 g L⁻¹ de cloreto de sódio ($NaCl$), 1 g L⁻¹ de sulfato de magnésio hepta-hidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 1,0 g L⁻¹ de fosfato de Ca ($Ca_5(PO_4)_3OH$), 15 g L⁻¹ de ágar, 1 L de água destilada a pH 7,0 e incubadas a aproximadamente 30 °C por uma semana. A capacidade de solubilização foi identificada pela presença de halo translúcido ao redor da colônia. O índice de solubilização (IS) foi determinado através da fórmula $IS = \text{diâmetro do halo (mm)} / \text{diâmetro da colônia (mm)}$ (Berraquero et al., 1976) e classificado quanto à capacidade de solubilização em baixa ($IS < 2$), média ($2 \leq IS \leq 4$) e alta ($IS > 4$).

Para determinar a capacidade de solubilização de zinco, as bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 horas, a 30 °C e 170 rpm. Com a pipeta automática, alíquotas de 2 μ L das suspensões bacterianas foram colocadas em placas de Petri com meio de cultura sólido (Saravanan et al., 2003) contendo 10 g L⁻¹ de glicose, 1 g L⁻¹ de sulfato de amônio ($(NH_4)_2SO_4$), 0,2 g L⁻¹ de cloreto de potássio (KCl), 0,1 g L⁻¹ de fosfato de dibásico potássio (K_2HPO_4), 0,2 g L⁻¹ de sulfato de magnésio hepta-hidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 1,0 g L⁻¹ de

óxido de Zn (ZnO), 15 g L⁻¹ de ágar, 1 L de água destilada a pH 7,0 e incubadas a aproximadamente 30 °C por sete dias. A avaliação do índice de solubilização de zinco foi realizada por meio da razão do diâmetro do halo translúcido que se forma em torno das colônias bacterianas solubilizadoras com o diâmetro da colônia (IS = diâmetro do halo (mm)/ diâmetro da colônia (mm)) e classificado quanto à capacidade de solubilização em baixa (IS<2), média (2 ≤IS ≤ 4) e alta (IS>4) (Berraquero et al., 1976).

Na quantificação da produção de compostos indólicos em meio de cultura, as isolados bacterianos foram crescidas previamente em meio líquido DYGS (Döbereiner et al., 1995) por 24 horas, a 30 °C e 170 rpm. Alíquotas de 25 µL foram transferidas para tubos de ensaio contendo 5 mL dos meios Dygs, com e sem adição de triptofano (100 mg L⁻¹) e incubadas no escuro por 72 horas, a 30 °C e 150 rpm. Para avaliação da síntese de indol (Sarwar e Kremer, 1995), 150 µL da cultura bacteriana foram transferidos para microplacas de poliestireno, sendo adicionados 100 µL do reagente de Salkowsky (1 mL de tricloreto de ferrohexa-hidratado (FeCl₃.6H₂O) – 0,5 mol L⁻¹, em 50 mL de ácido perclórico (HClO₄) – (35 % em água), seguido de incubação no escuro por 30 minutos. Após esse período, foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 492 nm. A concentração de indol foi dosada com curva de calibração, relacionando absorbância e concentração de ácido indol acético (AIA). Foram realizadas três repetições para cada estirpe bacteriana. Como controle positivo, foi utilizada a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* HRC54 (Radwan et al., 2005).

3.6. Identificação molecular dos isolados

Os isolados bacterianos obtidos a partir do estoque foram crescidos em 5 mL de meio líquido DIGYs por 24 horas a 30°C a 170 rpm em agitador orbital. Uma alíquota de 20 µL do pré-inóculo foi transferida para novo meio DIGYs nas mesmas condições descritas acima. Após 12 horas de crescimento, 1 mL da cultura foi colocada em microtubos e peletizada por centrifugação a 5000 G por 5 minutos. Para extração e purificação do DNA genômico total das bactérias isoladas e purificadas neste trabalho, foi utilizado o procedimento preconizado pelo kit de extração DNeasy Blood e Tissue Kit (Qiagen®) como descrito pelo fabricante. O DNA extraído de cada isolado bacteriano foi visualizado por

eletroforese em gel de agarose, usando tampão TAE 1x (Tris: 4,84 g; 2 mL de EDTA 0,5 M e ácido acético 1,15 mL) contendo brometo de etídio e observados em um sistema de fotodocumentação do tipo UV Bio - Imaging Systems (MF – ChemiBis 3.2). A amplificação do gene 16S rDNA foi realizada em um termociclador baseado na reação de PCR (“polymerase chain reaction”) utilizando os iniciadores universais para as bactérias: 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTCAG-3') e 1492R (5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3') (Weisburg et al., 1991). As condições de amplificação foram realizadas em um volume final de 50 μ L contendo 1 μ L (0.5 – 10.0 ng) do DNA total, 0,2 μ M do iniciador 27F, 0.2 μ M do iniciador 1492R, 5 μ M de cada dNTP, 3 μ L $MgCl_2$ e 2 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen). O controle negativo constou da mistura de PCR sem DNA. Os produtos da amplificação foram purificados (Dunn e Blattner, 1987), armazenados em freezer – 70 °C e, posteriormente, enviados para a firma Ludwig Biotecnologia para sequenciamento dos amplicons. As sequências 16S foram comparadas no banco de dados do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) com sequências conhecidas, por uma pesquisa de similaridade via Blast (Altschul et al., 1990).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. 1. Isolamento e contagem das bactérias

Neste trabalho foram isoladas, purificadas e estocadas um total de 232 bactérias oriundas da coleta em duas estações climáticas. No primeiro grupo de isolamento, obtido a partir de amostras de serrapilheira e solo em setembro de 2011 (designado grupo I), foram obtidos 169 isolados bacterianos a partir de diluições e plaqueamento em meio sólido de composição complexa (meio NB) e semi-sólido isento de N, onde foram obtidos 39 isolados de bactérias diazotróficas cultivadas em meio semi-sólido JNFb e LGI, detectadas a partir da formação de uma película aerotóxica e com sua população estimada através da metodologia do Número Mais Provável (NMP) (Tabela 4 A).

No segundo grupo de isolamento, obtidos a partir de amostras de serrapilheira e solo em abril de 2012 (designado grupo II), foram obtidos 63 isolados bacterianos a partir de diluições e plaqueamento em meio sólido de composição complexa (meio NB). Não foram isoladas bactérias diazotróficas crescidas em meio JNFb e/ou LGI, utilizando a metodologia do Número Mais Provável (NMP) (Tabela 5 A).

Nas amostragens que deram origem aos isolados do grupo I e II, uma nova abordagem metodológica para avaliações comparativas do potencial do inóculo de bactérias diazotróficas e heterotróficas culturáveis naturalmente presentes no solo e serrapilheira foi testada. Assim, a estimativa do número de

bactérias por grama de solo obedeceu a dois parâmetros, os quais foram: (a) quantificação da população sem indução, chamado neste trabalho de potencial populacional basal (pB) e (b) quantificação da população após aplicação de uma solução contendo três fontes de carbono prontamente assimiláveis, chamado de potencial populacional carbono-induzido (pC). Esta metodologia foi utilizada com sucesso por Aguiar (2012) para discriminar vermicompostos com diferentes potenciais primários de inóculo de bactérias fixadoras de nitrogênio, naturalmente associadas a este material. Assim, enquanto as populações diazotróficas estimadas no potencial basal variaram de muito baixas a não detectáveis, não permitindo a discriminação dos materiais, quando a fonte de carbono foi aplicada, um incremento populacional foi observado para todos os materiais, com diferenças baseadas no tamanho inicial das populações. Estas diferenças são relevantes na distinção e seleção de materiais para futuros estudos de veículos microbianos apropriados para proposição de novas formulações microbianas para aplicação na agricultura.

As estimativas dos tamanhos das populações bacterianas na condição de potencial basal (pB) e no potencial carbono induzido (pC) na serrapilheira (S) e nas diferentes profundidades no solo (P1, P2 e P3), podem ser observadas na tabela 1 (grupo I) e 2 (grupo I e II).

Tabela 1: Estimativa da densidade populacional de bactérias diazotróficas totais do grupo I, em dois meios semi-sólidos (JNFb e LGI), por meio de estimativa da população e carbono induzido na serrapilheira (S) e nas diferentes profundidades no solo (P1, P2 e P3). (Os dados são expressos em \log_{10} do número de células/g $\pm \log_{10}$ do desvio padrão com n=4)

DENSIDADE POPULACIONAL DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS (\log_{10} NMP/g solo ou serrapilheira)				
AMOSTRAS	Potencial Basal (pB)		Potencial Carbono Induzido (pC)	
	JNFb	LGI	JNFb	LGI
S	3,6 \pm 0,9	0,32 \pm 0,7	1,8 \pm 2,1	nd
P1	nd	nd	1,2 \pm 2,4	0,7 \pm 1,3
P2	nd	nd	0,9 \pm 1,9	nd
P3	nd	0,65 \pm 1,3	0,4 \pm 0,8	1,2 \pm 1,4

Onde: nd* - não detectável, P1 (0-10 cm), P2 (10-20 cm) e P3 (20-40 cm). Utilizou-se tanto para o pB quanto para o pC, as diluições 10^{-2} a 10^{-6} para NMP.

Pode-se notar que, para todas as profundidades do solo cultivadas em meio semi-sólido JNFb-malato, números não detectáveis de diazotróficos por

grama de solo foram obtidos quando nenhum estímulo ao incremento da população nativa foi imposto (potencial basal). Exceção feita para o compartimento serrapilheira, no qual foi verificado o crescimento destas bactérias com populações estimadas entre 2,7 e 4,5 unidades \log_{10} , o que pode ser decorrente do carbono prontamente assimilável presente na fração serrapilheira, via processo de decomposição desta matéria orgânica, composta basicamente por galhos grossos, folhas, troncos, raízes, resíduos de animais e detritos em geral (Selle, 2007). Comportamento similar ocorreu para bactérias cultivadas em meio LGI, embora populações de diazotróficos utilizadores de sacarose estejam numa ordem de grandeza \log_{10} menor que aquelas que utilizam C-malato. Bactérias fixadoras de nitrogênio que utilizam C-sacarose foram detectadas na camada de 20 - 40 cm do solo.

Fatores edáficos que podem colaborar com a explicação para a baixa densidade populacional de bactérias fixadoras de nitrogênio em amostras de solo nas diferentes profundidades podem ser encontrados na análise da Figura 1 A e tabela 1 A, em que, à medida que aumentamos a distância da fração serrapilheira, o teor de carbono (%) e por via de consequência os valores de matéria orgânica (g/dm^3) diminuem, resultando na redução da atividade microbiana e da sua densidade populacional. A condição de oligotrófia para carbono em profundidade, limitando populações de bactérias diazotróficas pode ser parcialmente comprovada pela análise da segunda parte da tabela 1, onde a aplicação de C-assimilável estimulou o incremento deste grupo funcional em profundidade, embora populações baixas tenham sido notadas.

Quando adotada a metodologia de aplicação e incubação com carbono prontamente assimilável (pC), verificou-se um incremento de microrganismos diazotróficos nas amostras do solo antes não detectável (P1, P2 e P3) para o grupo I (Tabela 1). Isto sugere uma nova modulação e comportamento destes organismos quando suplementados com a solução de carbono. Trabalho de Aguiar (2012) avaliou o potencial das bactérias diazotróficas presentes nas diferentes fontes de matéria orgânica estabilizada através desta nova metodologia, baseada na quantificação das populações bacterianas induzidas ou não pela aplicação de fontes de carbono ou exsudados da rizosfera. A autora observou neste trabalho, um incremento populacional bacteriano significativo em três dos cinco materiais testados. A comparação das bactérias fixadoras de N_2

entre (pB) e (pC) ilustra a possibilidade que esta metodologia oferece para discriminar o potencial de inóculo de diferentes vermicompostos e reforça a idéia de carbono como nutriente limitante em profundidade para a comunidade diazotrófica.

Para os diazotróficos crescidos em meio semi-sólido LGI, cuja fonte de carbono é a sacarose, não se verificou um comportamento como descrito para o meio JNFb entre os tratamentos (pB) e (pC). Ressalta-se ainda, o fato de não ser possível isolar diazotróficos em meio LGI e da aparente redução nas populações de diazotróficos de meio JNFb, ambos associados à serrapilheira pré-incubada com um coquetel de carbono solúvel. Uma possível explicação para estes dados advém da alteração do equilíbrio ecológico e dos princípios de sucessão microbiana que ocorrem durante as diferentes fases de decomposição da serrapilheira na floresta. Embora, na comparação com solo, este compartimento seja mais rico em carbono lábil, estes são rapidamente utilizados pelos colonizadores iniciais, restando a fração carbono mais recalcitrante e de alta relação C/N. Sob tais condições físico-químicas, um importante equilíbrio se estabelece entre microrganismos decompositores de celulose, hemicelulose, lignina e a comunidade capaz de fixar biologicamente o nitrogênio com transferência mútua de oligômeros de carbono e N-fixado. A aplicação de C prontamente assimilável romperia com esse equilíbrio, alterando a dinâmica de sucessão e desfavorecendo os diazotróficos. Esta seria uma hipótese interessante a ser testada a partir dos dados obtidos.

Segundo a classificação de Ribeiro et al. (1999), estas médias dos teores de carbono orgânico para as diferentes profundidades do solo deste grupo, caminham na classificação de média baixo quando as análises decorrem de gradientes superficiais para os mais profundos. Trabalho de Júnior e Melo (1999) evidenciaram que o teor de carbono orgânico é afetado de modo significativo pela profundidade de amostragem e pelo tipo de manejo do solo. Amostras de Terra Roxa Estruturada (Nitossolo Vermelho) de uma mata natural obtiveram índices mais baixos em horizontes do solo mais profundos (intervalo de valores entre 23,5 g/kg de C a 13,8 g/kg de C), além de apresentarem valores mais elevados de teor de carbono orgânico em relação a outros sistemas de manejo de solo analisados.

A quantificação da biomassa e da atividade microbiana, quando avaliada em conjunto com os atributos químicos e físicos do solo, como valores de pH, teor

de carbono orgânico, nitrogênio total e teor de argila do solo, por exemplo, possibilita uma avaliação sistêmica do ecossistema analisado, assim como a comparação com outros diferentes ecossistemas (Ozaki, 2008). Assim, mesmo sendo uma característica muito dinâmica e, de certa forma pouco informativa, a quantificação da biomassa microbiana pode estimar o potencial microbiológico da serrapilheira ou do solo e sua capacidade de transformação; pode quantificar substâncias relacionadas às quantidades de nutrientes essenciais aos microrganismos; possibilita relacionar estas quantidades de microrganismos com formas inorgânicas de importância agrônômica e ecológica do solo (Grisi, 1986).

Tabela 2: Estimativa da densidade populacional de bactérias heterotróficas totais do grupo I e do grupo II, por meio de contagem basal e carbono induzido na serrapilheira (S) e nas diferentes profundidades no solo (P1, P2 e P3). (Os dados são expressos em \log_{10} do número de células/g ou $\text{mL}^{-1} \pm \log_{10}$ do desvio padrão com $n=4$)

DENSIDADE POPULACIONAL DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS (log UFC/g solo)				
AMOSTRAS	Potencial Basal (pB)		Potencial Carbono Induzido (pC)	
	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO I	GRUPO II
S	3,8±3,1	6,6 ± 0,1	7,5 ± 1,2	5,6 ± 0,4
P1	nd	2,5 ± 0,9	8,2±1,1	7,4 ± 0,4
P2	nd	2,6 ± 1,0	7,2±1,7	7,1 ± 0,1
P3	1,5±3,0	1,5 ± 1,5	4,2±4,9	7,2 ± 0,1

Onde: nd* - não detectável, P1 (0-10 cm), P2 (10-20 cm) e P3 (20-40 cm). Utilizamos tanto para o pB quanto para o pC, as diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} mL.

A densidade populacional de bactérias heterotróficas oriundas de amostras serrapilheira no (pB) do grupo I (Tabela 2), evidenciam mais uma vez, agora para o grupo biodiverso de bactérias heterotróficas, a importância dessa fração na manutenção e sustentabilidade de diversos ecossistemas. Análises qualitativas e quantitativas do material orgânico da serrapilheira são fundamentais para a compreensão da dinâmica e funcionamento dos ecossistemas, pois a serrapilheira abriga importantes processos de transferência de nutrientes da fitomassa ao solo, gerando ainda, carbono estrutural na forma de matéria orgânica estabilizada para fornecer nichos microbianos para atividade microbiana. Os estudos de Rigobelo e Nahas (2004) demonstraram que o clima e as variáveis do solo afetam a densidade das bactérias e suas atividades. No verão, devido à maior umidade e precipitação de chuva, houve um incremento da fração

serrapilheira em florestas de eucalipto e de Pinus. Esta correlação entre o aumento na massa total da fração serrapilheira e a matéria orgânica favoreceu ao aumento da densidade microbiana.

Os valores populacionais obtidos para amostras de serrapilheira e do solo no (pC) ainda do grupo I, demonstram um incremento populacional em todas as frações analisadas (de até quatro unidades logarítmicas) e o aparecimento de populações detectáveis no P1 e P2 (Tabela 2). Tais resultados já eram esperados, e foram anteriormente discutidos para a comunidade de bactérias diazotróficas, visto que a aplicação de carbono funciona como fonte de energia para o desenvolvimento desses microrganismos.

Seguidamente, serão apresentados os dados para estimativa populacional de bactérias diazotróficas e heterotróficas nos potenciais basais e C-induzido no segundo período de coleta (abril/2012).

Como relatado anteriormente, na segunda época de amostragem (designado grupo II), foi obtido um número menor de isolados e não foi possível isolar bactérias formadoras de película aerotóxica, quando alíquotas de suspensões de serrapilheira e diferentes profundidades do solo foram semeadas em JNFb e LGI semi-sólidos isentos de N.

A distribuição das chuvas nas parcelas está demonstrada na figura 3, através do quantitativo de chuva que ocorreu onde estão localizadas as mesmas, fazendo com que sejam claramente detectadas as diferenças pluviométricas. Sua sazonalidade apresenta maior precipitação pluviométrica no período que antecede a coleta deste solo, tendo os meses de janeiro e março de 2012, valores acima dos verificados para o período da coleta I (ano de 2011). Para Michereff et al. (2005), as bactérias são mais higrofilicas que os fungos. Efeitos estressantes, como o excesso hídrico, reduzem a aeração e causam anoxia, afetando diretamente a densidade microbiana e seus processos metabólicos, justificando os baixa densidade populacional bacteriana observada no grupo II (Tabela 5 A). Essas e outras particularidades dificultam as interpretações dos estudos ecológicos, pois esperava-se que houvesse maior isolamento de bactérias em virtude de maior umidade do solo, porém, o nível de umidade excedeu, diminuindo a aeração, interferindo diretamente na densidade bacteriana total.

Por outro lado, para todos os compartimentos amostrados no sistema serrapilheira/solo, bactérias heterotróficas foram detectadas e quantificadas.

Analisando primeiramente os dados populacionais basais (pB) mostrados na tabela 2, os maiores índices populacionais para bactérias heterotróficas foram obtidos na fração serrapilheira com valores populacionais médios de $4,1 \times 10^6$ cels/g de serrapilheira. Estes valores, quando comparados aos valores de bactérias oriundas de amostras de solo para as diferentes profundidades, revelaram incrementos populacionais com valores superiores a 3 unidades \log_{10} , o que ressalta a importância desta fração para manutenção e magnitude de processos de ciclagem e outros que sustentam este ecossistema. O trabalho de Penã et al. (2005) correlaciona a atividade microbiana com diferentes horizontes do solo, onde observou-se um gradiente de produção de CO_2 entre as camadas do solo na seguinte ordem: folhas fragmentadas > húmus > solo mineral. Isto concorda com a visão científica de que a atividade microbiana está concentrada, principalmente, nas camadas mais orgânicas do solo.

Os valores dos nutrientes apresentados na figura 1 A e tabela 2 A, referentes ao segundo grupo, indicam maiores teores de carbono orgânico nos horizontes do solo mais superficiais, valores estes, decorrentes do maior aporte de matéria orgânica expressos em g/dm^3 (Fraga et al., 2012). Ainda, segundo estes autores, os maiores valores descritos nos horizontes mais superficiais do solo, contribuem também, para os maiores valores de K, elemento este facilmente lixiviável no material em decomposição. Observando ainda, a tabela 2 A, verifica-se que as amostras mais superficiais do solo (P1) são classificadas como eutróficas, pois sua saturação de bases (V%) é maior que 50% (Dosciatti, 2003).

Existe uma variação considerável nos valores mínimos, ótimos e máximos de pH para o crescimento de gêneros de bactérias, mas a maioria está compreendida na faixa de pH mínimo, variando de 4,5 a 5,0 e máximo de 8,0 a 8,5, sendo o pH ótimo entre 6,5 a 7,5 (Oginsky e Umbreit, 1959). Desta forma, o pH referente às quatro amostras do solo, descritas nas tabelas acima, é considerado bom para fungos, pois estes microrganismos sobrevivem bem em solos ácidos (valores variando de 4,3 a 6,1). Já para bactérias não é muito bom, pois exigem um pH na faixa de 6,5 e 7,5 (Alexander, 1980) e agronomicamente falando, esta acidez ativa do solo encontra-se na faixa de classificação de muito baixo a baixo segundo Ribeiro et al. (1999).

Sessistsch et al. (2001) propuseram que a diversidade está relacionada com o tamanho da partícula e com o pH do ambiente, onde afirmam que quanto

maior o tamanho da partícula e menor o pH, menor será a biomassa e diversidade microbiana. As amostras da profundidade P3 apresentaram baixos valores de pH e maiores granulometrias de areia (1 A e 3 A), o que há possibilidade de redução da diversidade de microrganismos nesta fração (P3) com o aumento do tamanho da partícula do solo (Kanazawa e Filip, 1986) e com a diminuição do pH.

Observando a tabela 2, na contagem-pC, foram obtidos maiores valores populacionais na comparação com a contagem no pB. Interessante ressaltar que a aplicação de carbono não alterou a densidade populacional da serrapilheira (comparação pB x pC), o que sugere que neste compartimento pode não existir limitação no conteúdo de C para sustentar populações de bactérias heterotróficas. Silva et al. (2012) avaliaram o efeito de dois tipos de manejo agrofloretais (SAFs 1 e 2) sobre os estoques de serrapilheira, sobre as características químicas do solo, a atividade e a biomassa microbiana do solo (BMS), comparando-os a uma área com agricultura anual (AgAn) e uma mata secundária no município de Paraty-RJ. Antes do manejo (poda), verificou-se que a área de mata secundária apresentou maiores estoques de serrapilheira, carbono orgânico total, teor de nitrogênio, carbono da biomassa microbiana e quociente microbiano quando comparadas com as outras áreas, evidenciando a sustentabilidade deste compartimento sobre o desenvolvimento e atividade microbiana. Já o mesmo não pode ser dito para o solo onde as populações do pC apresentados na tabela 2, foram 10^4 a 10^5 superiores as populações basais, ambiente sabidamente C-oligotrófico.

A disponibilidade de fósforo, de acordo com o teor de argila descrita na tabela 3 A, apresentam-se na faixa de muito baixo (Ribeiro et al., 1999), o que justifica os estudos sobre esta interface solo-planta, onde a microbiota exerce papel fundamental nos processos de mineralização e solubilização através da excreção de enzimas, fitases e principalmente ácidos orgânicos (Junior et al., 2010) e (Silva et al., 2011).

O trabalho de Ourives (2010) demonstrou um incremento no teor de fósforo conforme a elevação dos teores de Bokashi (definição japonesa para todo composto de origem orgânica). Esta correlação direta pode ser verificada na figura 1 A (grupo I), onde, horizontes do solo mais superficiais apresentam maiores valores de matéria orgânica (g/dm^3), por conseguinte, maiores teores de P. Já para Ozaki (2008), solos com alto teor de argila fixam mais P do que

aqueles com baixo teor de argila. Desta forma, os dados apresentados na tabela 3 A vão de encontro com esta afirmação, pois na fração do solo mais superficial (P1) o teor de argila apresentado em g/Kg é menor quando comparados com perfil do solo em maior profundidade (P2 e P3). Diante disto, a disponibilidade deste macronutriente no solo é reduzida em maiores profundidades (Figura 1 A).

4. 2. Caracterização Morfológica e Cultural dos Isolados

Como mencionado anteriormente, 169 isolados bacterianos (grupo I) foram obtidos em meio NB e em meios semi-sólido JNFb e LGI, oriundos de diferentes amostras e profundidades. Na figura abaixo, seguem algumas imagens ilustrativas. (Figura 5)

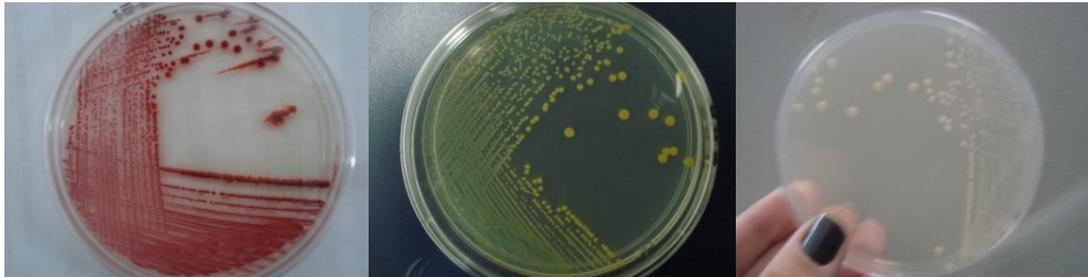


Figura 5: Exemplos de isolados bacterianos oriundos do solo (Grupo I).

Na tabela 4 A, pode-se observar a morfologia celular descrita ao microscópio de luz em material corado e a reação de Gram para todos os isolados obtidos. Os resultados dessa tabela mostram que 75% destes isolados bacterianos apresentaram características morfológicas de bastões (curtos ou longos) e 25% apresentaram características morfológicas esféricas (cocos e duplo cocos) (Figura 6). Estudos de Stieven et al. (2009) indicaram um predomínio de bactérias gram-negativas com formas em bastões em solos de mata nativa, quando comparadas com pastagem cultivada e pastagem nativa.

Proporção Morfológica das Bactérias Coradas pela Coloração de Gram

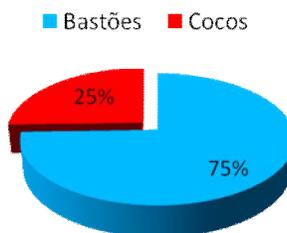


Figura 6: Característica morfológica da célula dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011 (Grupo I), em área de Floresta Atlântica.

A coloração de Gram é um importante método bacterioscópico utilizado na classificação de microrganismos com base em suas características tintoriais e morfológicas (Langoni et al., 2009). As bactérias são classificadas basicamente em dois grandes grupos: Gram-positivas e Gram-negativas. Com relação às características tintoriais, as bactérias Gram-positivas coram-se de roxo e as bactérias Gram-negativas coram-se de rosa (Carvalho, 2012). Isto ocorre, pois as bactérias Gram-positivas, que têm a parede celular composta por uma espessa camada de peptídeoglicano, permanecem com a coloração conferida pelo corante primário (roxo). Já as bactérias Gram-negativas, com parede celular composta predominantemente por ácidos graxos (lipopolissacarídeos e lipoproteínas), são incapazes de reter a coloração violeta, devido à descoloração da camada lipídica por etanol/acetona, assumindo a coloração do último corante (vermelho) (Martins, et al., 2001)

Foram realizadas coloração de Gram em cada uma das amostras. De acordo com essa análise, verificou-se que das colônias de bactérias isoladas do grupo I (Tabela 4 A), 89% foram caracterizadas como Gram-negativas e 11% como Gram-positivas (Figura 7).

Proporção Morfológica dos Isolados Corados pela Coloração de Gram

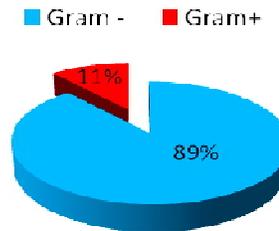


Figura 7: Característica morfológica da célula dos isolados bacterianos, obtidos pela coloração de Gram da coleta de setembro de 2011(Grupo I), em área de Floresta Atlântica.

Considerando suas características tintoriais, este dado não corrobora com outros resultados citados na literatura, no qual foram relatados microrganismos em forma de bastões gram-positivos como o representante majoritário na comunidade bacteriana do solo de florestas (Batista, 2010). De acordo com a autora, a prevalência dos bastões gram-positivos podem estar relacionados ao fato de que a maioria das bactérias pertencentes a esse grupo formarem esporos, tornando-se mais resistentes a situações adversas, seguido ainda, do relato de um número expressivo de cocos gram-positivos. Esse resultado também pode ser justificado, conjecturando que o solo não representa um ambiente isolado, possuindo ligações diretas com a água, ar, planta e animais.

No segundo grupo de isolados (Grupo II), foram obtidos 63 isolados bacterianos. A identificação parcial desses isolados teve início pela observação das características morfológicas e a coloração de Gram (Tabela 5 A). Os resultados indicaram que 60% se apresentaram na forma bastão e 40% na forma esférica (Cocos e duplo cocos) (Figura 8). O emprego da coloração de Gram teve como objetivo verificar a pureza da cultura e a forma predominante como as bactérias se apresentavam (Cocos ou bastões). Sendo que 62% das bactérias foram caracterizadas como Gram-negativas e 38% como Gram-positivas (Figura 8).

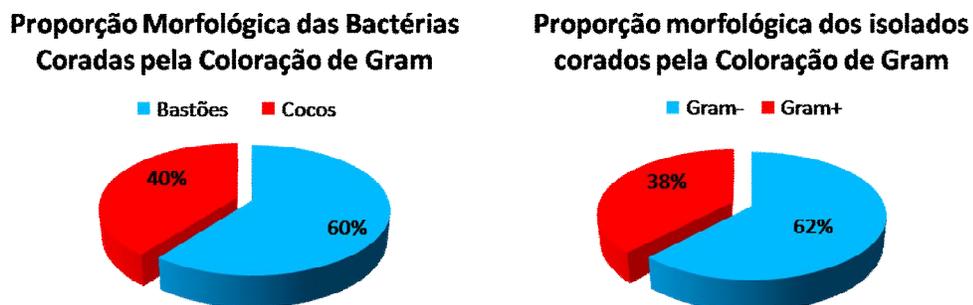


Figura 8: Característica morfológica da célula dos isolados bacterianos, obtidos pela coloração de Gram na coleta de abril de 2012 (Grupo II), em área de Floresta Atlântica.

Abaixo, seguem algumas imagens ilustrativas visualizadas ao microscópio óptico dos isolados bacterianos, obtidos do grupo I e do grupo II.

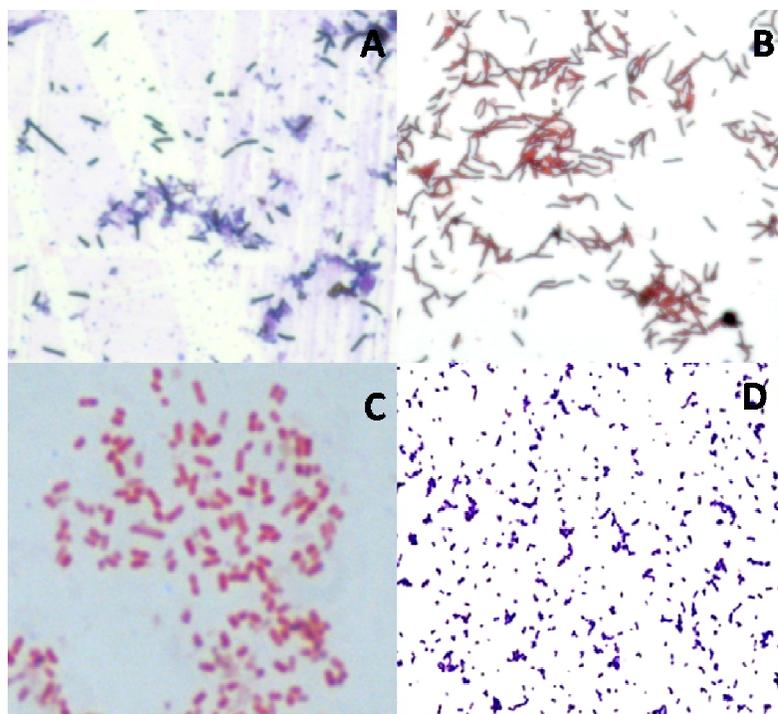


Figura 9: Caracterização morfológica e cultural dos isolados microbianos do grupo I (A e B) e grupo II (C) e (D) imagem ilustrativa. Onde: A= isolado bacteriano 4T.F (bastão gram positivo), B= isolado bacteriano 15D.B (bastão gram negativo), C= isolado bacteriano 6E (cocos gram negativo) e D= Imagem ilustrativa (cocos gram positivo).

4. 3. Classificação dos microrganismos isolados quanto às características fenotípicas da colônia, segundo Perin (2003)

As características morfológicas dos isolados do grupo I em meio Dygs sólido estão descritas na tabela 6 A. De acordo com a coloração das colônias, 90% dos isolados apresentaram coloração bege, 4% branca, 3% amarelo, 2% transparente e 1% roxa. Com relação ao tamanho dos isolados, 85% são maiores que 1mm e 15% são puntiformes, a forma das colônias 88% são circulares e 12% mostraram-se irregulares. Nessa tabela, verifica-se também que a elevação dos isolados apresentaram 91% do tipo plana, 4% Umbonada, 3% convexa e 2% umbilicada. 64% dos isolados apresentaram bordo inteiro, 26% ondulada, 9% denteada e 1% filamentososa. E em quase sua totalidade, 97% dos isolados bacterianos apresentaram superfície lisa, contra 3% que apresentaram superfície rugosa (figura 10).

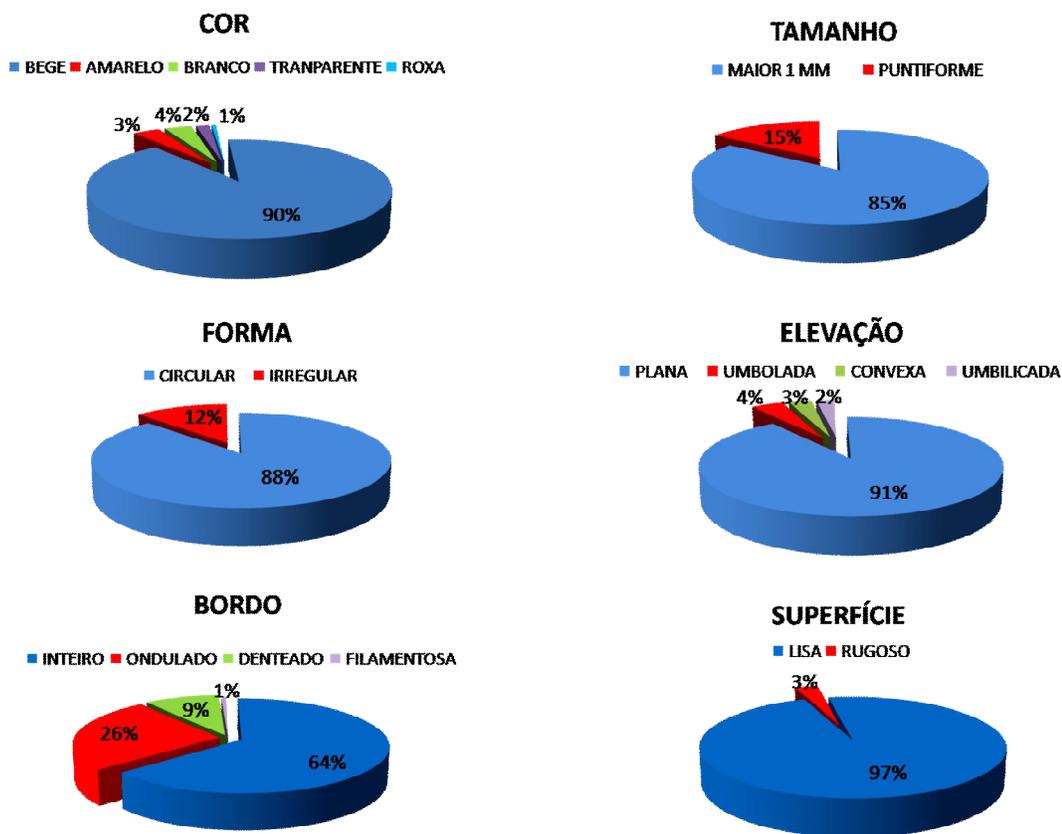


Figura 10: Características morfológicas das colônias dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011 (Grupo I), em área de Floresta Atlântica.

Na tabela 7 A, estão dispostos os isolados bacterianos pertencentes ao grupo II e sua classificação, segundo algumas características das colônias. De acordo com a coloração das colônias, 67% apresentaram cor bege, 19% branco, 11% amarelo, 2% transparente e 1% vermelho. 86% tiveram tamanho maior que um milímetro, enquanto 14% apresentaram-se puntiformes. 81% apresentaram forma circular e 19% irregular. 66% dos isolados bacterianos apresentaram a elevação plana, 13% Umbonada, 11% convexa e 5% pulvinada e umbilicada. Quanto ao bordo, 51% apresentaram bordo inteiro, 35% ondulado, 8% denteado, 5% lobada e 1% filamentososa. E em sua maioria, os isolados bacterianos apresentaram superfície lisa 86% e 14% rugosa (Figura 11).

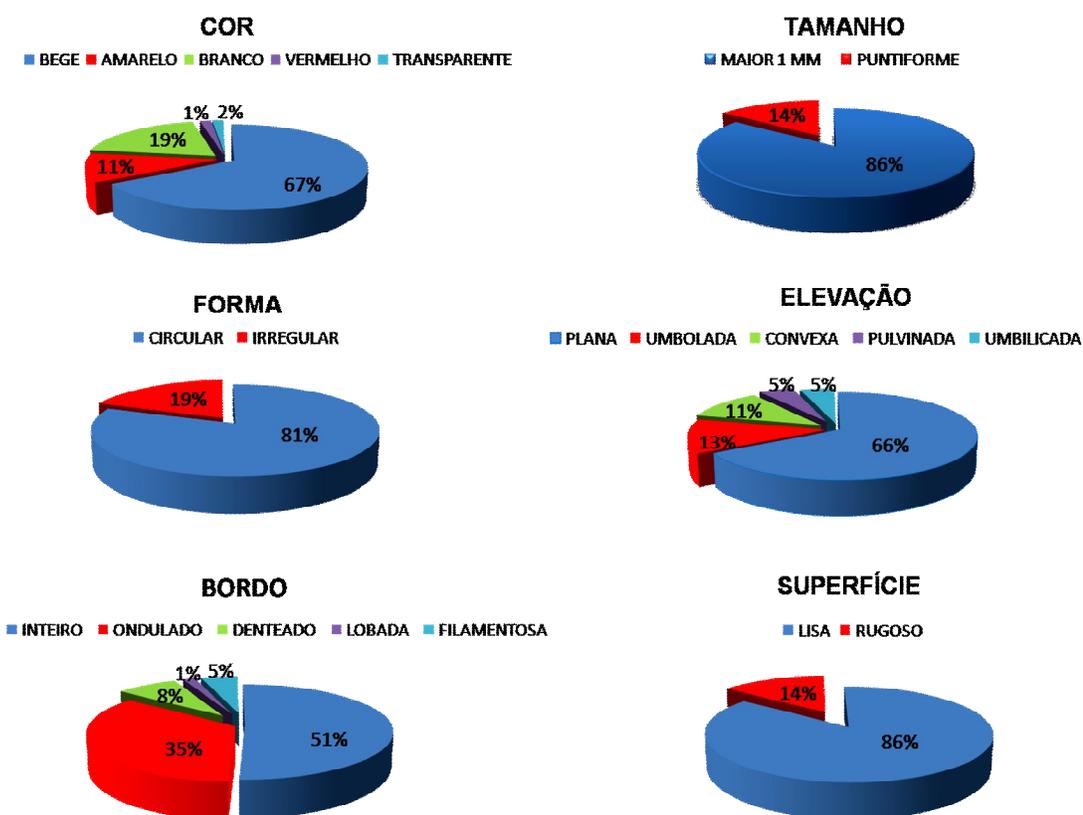


Figura 11: Características morfológicas das colônias dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de abril de 2012 (Grupo II), em área de Floresta Atlântica.

4. 4. Características fenotípicas dos isolados relacionadas à promoção do crescimento vegetal

Todos os isolados foram testados quanto à capacidade de solubilizar fosfato de cálcio, óxido zinco e de produzir compostos indólicos na presença ou não de triptofano.

Na solubilização do fósforo do grupo I, 91% dos isolados bacterianos apresentaram o halo translúcido em torno de suas colônias, indicando que solubilizaram P, contra 9% que não apresentaram este alo indicativo de solubilização (Figura 12).

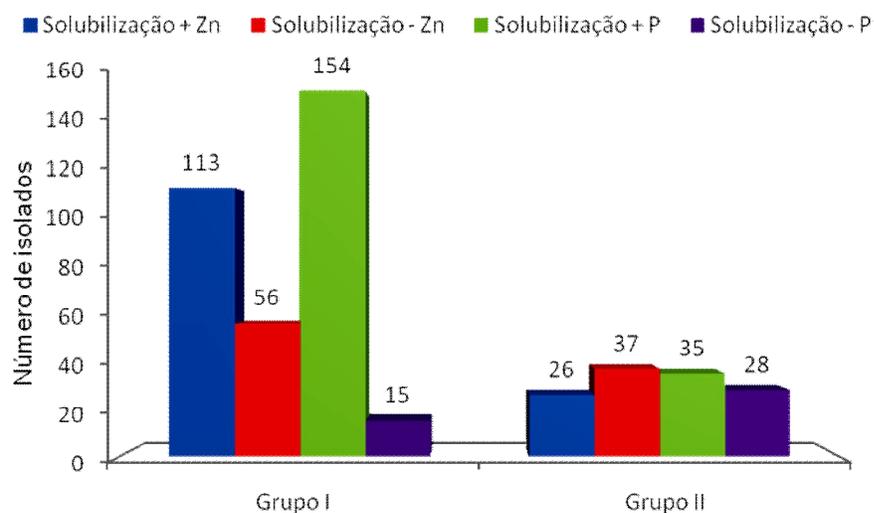


Figura 12: Solubilização de óxido de zinco (ZnO) e fosfato de cálcio (Ca₃(PO₄)₂) dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011 (grupo I) e abril de 2012 (grupo II), em área de Floresta Atlântica.

Destacam-se os isolados 4 R.F, 10 D.B, 2 D.B que se encontram na fração serrapilhiera (S), apresentando alto índice de solubilização de fosfato de cálcio (Ca(PO)₄), assim como os isolados 10 A (P1), 7 B.B, 11 C e 16 D.B (P2) e 41 B (P3) (Tabela 8 A).

Para os isolados bacterianos do grupo II, 56% apresentaram altos índices de solubilização, verificados por meio de um halo solubilizador presente em torno das colônias, de acordo com a metodologia de Berraquero et al. (1976), contra 44% dos isolados que não conseguiram produzir este halo solubilizador (Figura 12). Os isolados de destaque foram 10 E (P2), 4L (S) e 14 H (P3) (Tabela 9 A).

Esses dados corroboram com os fornecidos na figura 1 A e tabela 1 A para o grupo I, onde os maiores teores de P encontram-se na fração P1 e P2, advindos do maior aporte de matéria orgânica e da solubilização promovida por microrganismos presentes nestas frações mais superficiais do solo. Não foram apresentados os dados de P para a fração serrapilheira, mas acredita-se que os teores mais elevados de fósforo (mg/dm^3) estejam nesta fração, decorrente deste acúmulo de matéria orgânica. São inúmeros os fatores que afetam a disponibilidade do fósforo no solo. Podemos citar o teor de matéria orgânica e o de argila (Bahia Filho et al., 1893, Guerra et al., 2006; Moreira et al., 2006).

A disponibilidade de nutrientes é um dos fatores determinantes para o desenvolvimento vegetal. No caso dos solos brasileiros, o fósforo é um dos elementos mais limitantes (Massenssini et al., 2008). A matéria-prima básica para a fabricação de fertilizantes fosfatados é a rocha fosfática, sendo mais comumente utilizadas, as apatitas. Trata-se de um recurso natural não-renovável e que não tem sucedâneo para as plantas, além de ocorrer apreciável consumo de energia e mão-de-obra especializada para a produção de fertilizantes solúveis. Estes altos custos contribuem para a redução da aplicação por agricultores, havendo necessidade de estabelecer estratégias para o uso eficiente e econômico das rochas fosfáticas (Stamford et al., 2004).

Uma alternativa para biodisponibilidade destas formas de P envolve a capacidade de solubilizar fontes de fosfatos inorgânicos insolúveis, aumentando o conteúdo de fósforo solúvel na solução do solo pela ação de diferentes grupos microbianos, por meio de diferentes mecanismos. Nesta direção, a seleção de isolados capazes de solubilizar P se constitui um passo inicial para alavancar tais tecnologias nos diferentes sistemas de produção.

Os estudos de Cerigioli (2005) demonstraram a habilidade de 43 isolados endofíticos de planta de milho em solubilizar fosfato inorgânico. Deste total, apenas dois isolados não foram capazes de solubilizar o fosfato de cálcio. Nestes ensaios, foram observados diversos gêneros bacterianos já citados na literatura, capazes de solubilizar o fosfato de cálcio, dos quais podem-se destacar os *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e outros que ainda não tinham relatos na literatura, como *Sphingobacterium*, *Ochrobactrum*, *Stenotrophomonas* e *Methylobacterium*.

Para solubilização de zinco, um grupo mais restrito de isolados (67% dos isolados do grupo I) apresentou o halo translúcido em torno das colônias de bactérias (Figura 12).

Os isolados inoculados em meio a base de óxido de zinco (ZnO) mais promissores para a solubilização desse nutriente são os isolados 4 A, 5D.B, 11D.B, 6D.B, 8D.B da fração serrapilheira, 5 B.B, 11 A, 12 A, 13 A da primeira profundidade do solo (P1), 7 B.B, 29 A, 23 A, 22 A, 24 A, 21 A da segunda profundidade (P2) e 37 B, 37 A, 40 A, 44 A, 45 A, 2 H.F da fração P3 do solo (Tabela 8 A). Diferente da tendência no grupo I, nos dados de solubilização de zinco para os isolados do grupo II foram maiores os valores para os microrganismos que não apresentaram a formação de um halo translúcido em torno das colônias, indicando que não são capazes de solubilizar o óxido de zinco.

Dos 41% dos isolados bacterianos que solubilizaram Zn (Figura 12), destacam-se os isolados 1 B (P1), 2 E (P2), 14 H (P3), 13 E (P2), 6 E (P2) e 14 B (P3) (Tabela 9 A). As bactérias cujos códigos são 7 B.B e 14 H, são bem promissores na solubilização, tanto de Zn quanto de P, respectivamente, para o grupo I e grupo II (Tabela 8 A e 9 A).

Para Fernandes (2006), no solo, o zinco é encontrado nos horizontes mais superficiais, o que está relacionado ao fato de os resíduos das plantas se depositarem na superfície, sendo posteriormente liberados os nutrientes via decomposição e devido à baixa mobilidade do zinco no perfil, decorrente da sua capacidade de ser fixado a MO, argilas silicatadas, óxidos e hidróxidos de ferro. Diante disto, os dados da tabela 1 A e 2 A legitimam os maiores teores deste micronutriente do grupo I e grupo II nas frações mais superficiais do solo, quando correlacionados aos maiores valores de matéria orgânica.

Imagens ilustrativas do potencial de solubilização de zinco e fósforo para os isolados do grupo II podem ser observadas na figura 13.

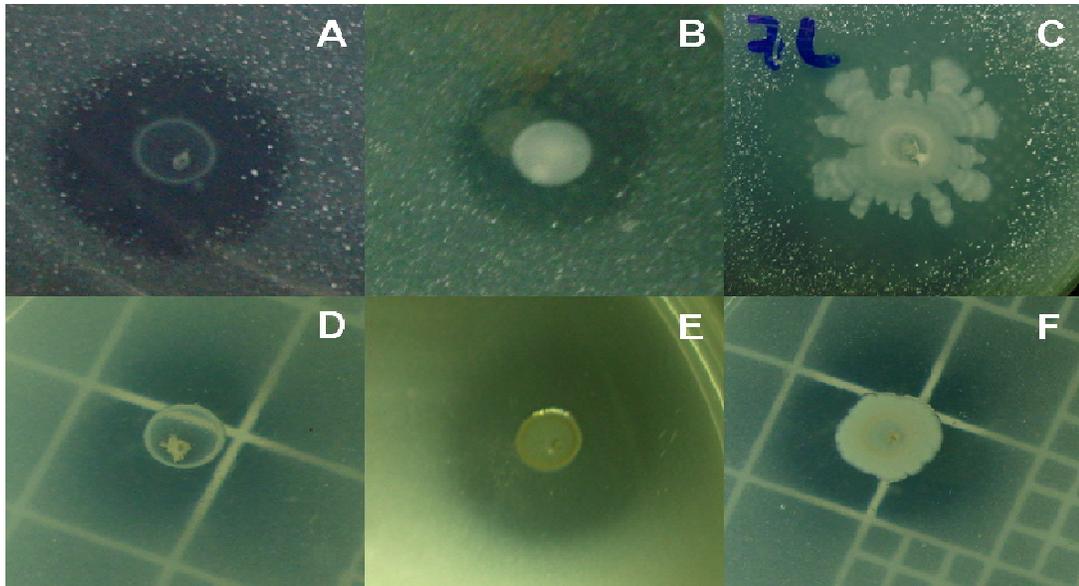


Figura 13: Solubilização de Zn e P do grupo II. Onde: Os isolados A (13B), B (13H) e C(7L) são isolados solubilizadores de Zn e D (4E), E (7H) e F(11B) são solubilizadores de P.

Além da capacidade de fixar nitrogênio, solubilizar fontes fosfatadas e zinco, pesquisas têm demonstrado mudanças na anatomia e fisiologia de diferentes genótipos de cana-de-açúcar, quando inoculados pela bactéria *G. diazotrophicus*. Alterações como o aumento das raízes laterais, assim como mudanças na geometria das raízes pelo aumento da proporção de raízes finas e do sistema radicular como um todo (Olivares et al., 2001), são atribuídas à capacidade destes microrganismos em produzir e secretar fitormônios.

Existem muitos relatos na literatura evidenciando a capacidade de bactérias associadas a plantas em produzir fitormônios e, conseqüentemente, influenciar o crescimento de planta. Farina et al. (2012) relatam a capacidade de 302, dentre os 308 microrganismos isolados do solo, rizosfera e raízes de canola (*Brassica napus*), em produzir compostos indólicos.

Para avaliação da produção de ácido indol acético (AIA) por bactérias endofíticas de folhas de diferentes espécies de bromélias, foram utilizadas duas metodologias distintas no trabalho de Reginatto (2008). A primeira metodologia adotada no trabalho desta autora foi descrita por Bric et al. (1991), onde as bactérias foram incubadas em ágar típico de soja suplementado de 5mM de L-triptofano, cobertos com membrana de nitrocelulose estéril e a segunda metodologia foi descrita por Glickmann e Dessaux (1995), onde utilizou-se um

caldo Lúria enriquecido de 5mM de L-triptofano e duas diferentes formulações do reagente Salkowski. De 76 isolados bacterianos, 57 cepas bacterianas foram evidenciadas na utilização do método de Glickmann e Dessaux e 20 apresentaram resultados positivos, quando empregada a membrana de nitrocelulose. Apenas 13 isolados bacterianos tiveram a detecção da produção do fitormônio nas duas metodologias empregadas. O aparente insucesso da metodologia de Bric et al. decorre do tamanho que as colônias podem atingir, pois caso a colônia cresça muito, o AIA espalha-se na membrana, dificultando a interpretação dos resultados.

Devido à sua facilidade, rapidez, sensibilidade e custo, o reagente de Salkowski tem sido largamente empregado na detecção do AIA produzido por bactérias diazotróficas e fitopatogênicas (Hartmann, 1983; Radwan et al., 2005; Steenhoud e Vanderleyden, 2000). O método colorimétrico baseia-se na oxidação de compostos indólicos por sais férricos. A reação de uma solução de AIA com o reagente de Salkowski resulta na coloração amarelada para o teste negativo e rosa avermelhado para o teste positivo (Marchioro, 2005).

No presente trabalho, 100% dos isolados bacterianos pertencentes aos dois grupos, na presença e ausência de triptofano, foram capazes de produzir esse fitormônio. Resultados semelhantes foram obtidos num estudo desenvolvido por Assumpção (2009), no qual foi avaliada a diversidade da comunidade bacteriana endofítica de soja e seu potencial biotecnológico *in vitro* e verificou-se que dos 176 isolados avaliados, 100% produziram AIA, 18% dos isolados controlaram o crescimento de fungos fitopatogênicos e 39% solubilizaram fosfato de cálcio.

As produções de AIA, neste estudo, variaram de 15,3 a 688,0 μM em meio sem triptofano e de 12,8 a 603,2 μM em meio na presença de triptofano para o grupo I (Tabela 10 A no anexo). Estes valores são similares aos observados por Milani et al. (2009), em que foram verificadas variações de 289 a 487 μM nos valores da concentração de AIA de cinco estirpes testadas de *A. lipoferum* em meio sem triptofano e de 321-441 μM em meio acrescido de triptofano. Para as estirpes de *Gluconacetobacter* avaliadas, houve um incremento na produção de AIA em relação aos *Azospirillum* testados. As estirpes de *Gluconacetobacter* produziram de 312 a 538 μM em meio sem triptofano e de 239 a 601 μM em meio com triptofano. Porém, Reis Junior et al. (2004), observaram menor produção de

AIA em isolados de *A. amazonense* associados a diferentes genótipos de *Brachiaria* spp. com variações na ordem de 35 a 110 μ M.

As figuras a seguir (figs 14 a 17) representam a média da produção de AIA na presença ou não de triptofano dos isolados nos diferentes compartimentos (S, P1, P2 e P3). Os isolados que produziram valores acima da linha tracejada em vermelho representam aqueles isolados bacterianos que produziram concentração deste fitormônio acima da média, na presença de triptofano. Quanto aos isolados que apresentaram concentrações acima da linha tracejada em azul, são os que produziram AIA acima da média, na ausência de triptofano. Na Figura 14, observam-se isolados potenciais para a produção de AIA da fração serrapilheira, tanto em meio acrescido quanto ausente de triptofano. Destaca-se a capacidade de alguns isolados produzirem AIA acima da média em meio de cultura sem o precursor triptofano, assim como o trabalho de Balota et al. (1995), onde a *Klebsiella* sp. M-51 acumulou AIA *in vitro*, independente do fornecimento do precursor triptofano até as 120 horas de incubação. Nos estudos de Milani et al. (2009), dos três isolados de *Azospirillum* testados na ausência do triptofano, os isolados IPRA-13 e IPRA-21 apresentaram maior acúmulo de AIA em relação aos padrões testados (BR 11001, *A. brasiliense* e BR 11080, *A. lipoferum*).

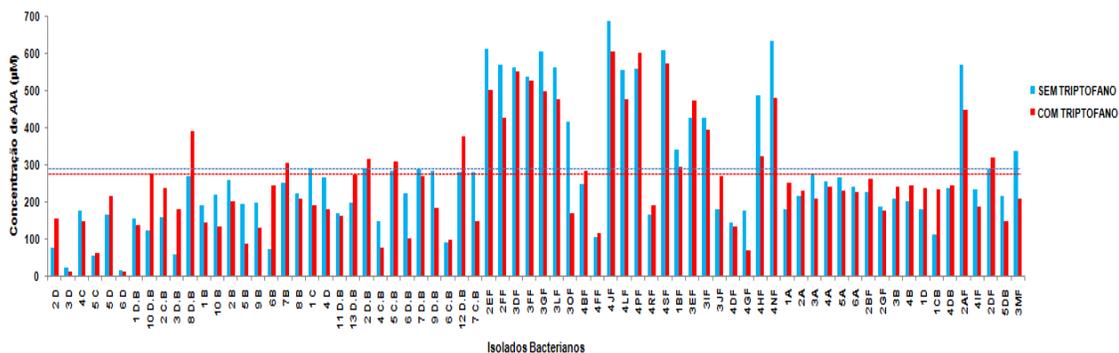


Figura 14: Produção de ácido indol acético por isolados da fração serrapilheira da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo I.

As figuras abaixo (Figura 15, 16 e 17) representam a produção de AIA dos isolados do solo P1, P2 e P3, respectivamente. Para todos estes compartimentos, valores da produção de AIA acima da média foram detectados.

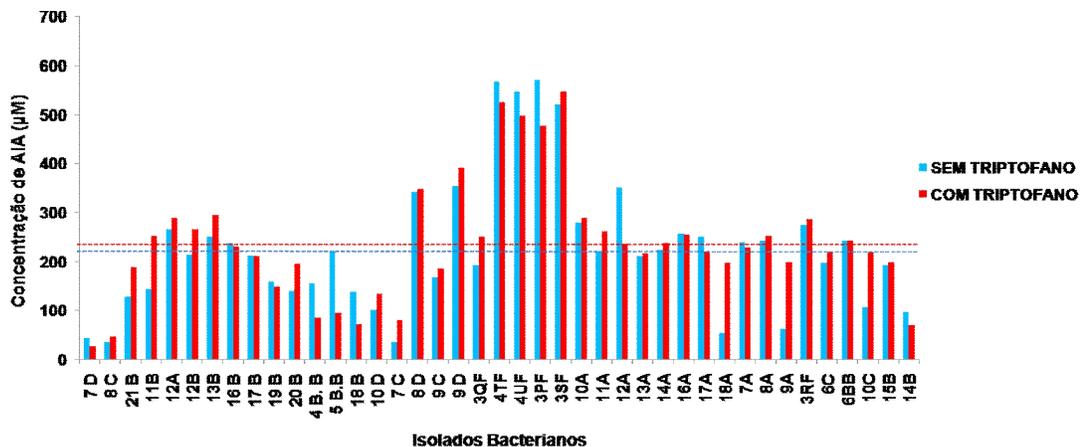


Figura 15: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P1) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo I.

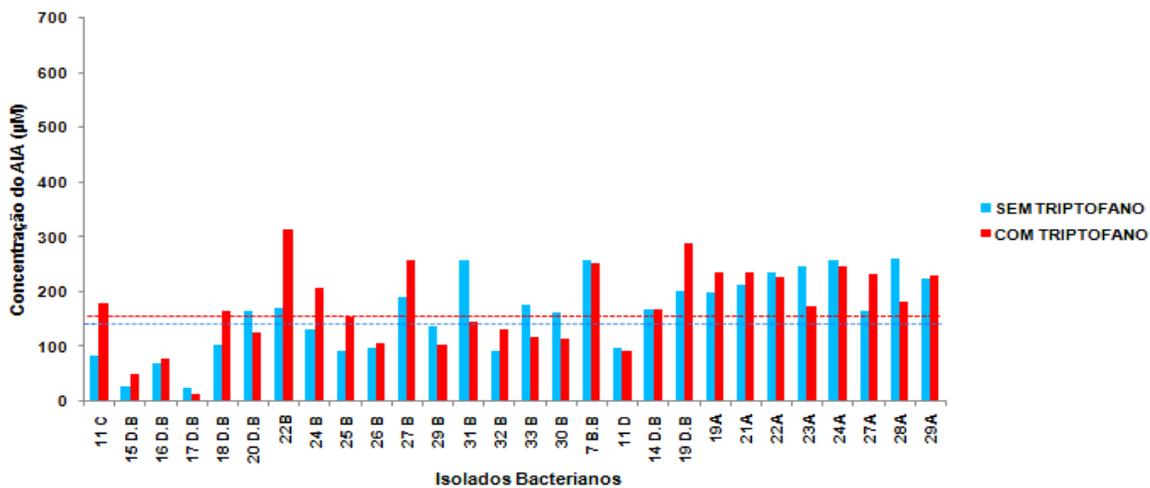


Figura 16: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P2) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo I.

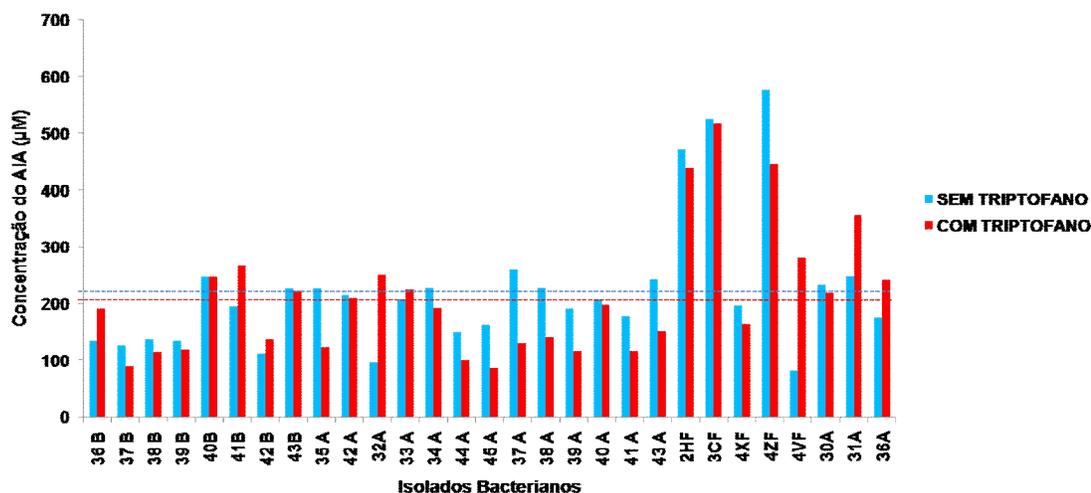


Figura 17: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P3) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo I.

Para o grupo de isolados II, o intervalo de produção de AIA variou de 53,5 a 625,0 μM em meio sem triptofano e 48, 0 a 619, 2 μM em meio acrescido de triptofano (Tabela 10 A). Numa proporção menor que o grupo anterior, valores da concentração de AIA acima da média neste grupo (Grupo II) foram detectados na fração serrapilheira para os isolados cultivados, tanto em meio de cultura acrescido quanto isento de triptofano (Figura 18).

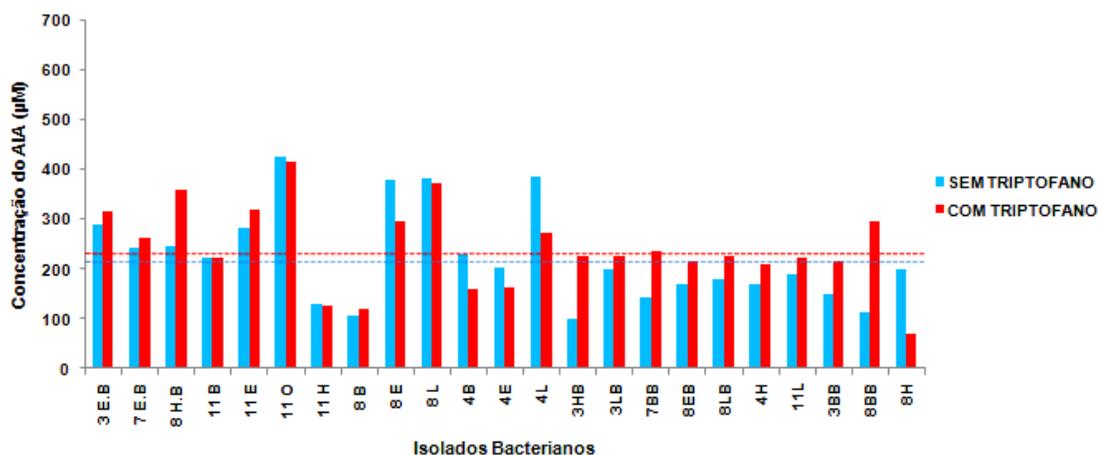


Figura 18: Produção de ácido indol acético por isolados da fração serrapilheira da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo II.

Para as profundidades do solo P1, P2 e P3, também foram observados potenciais isolados na produção deste fitormônio. As profundidades P1 e P2

apresentaram isolados expressivos na produção de AIA, apresentando valores próximos a 600 μM na concentração .

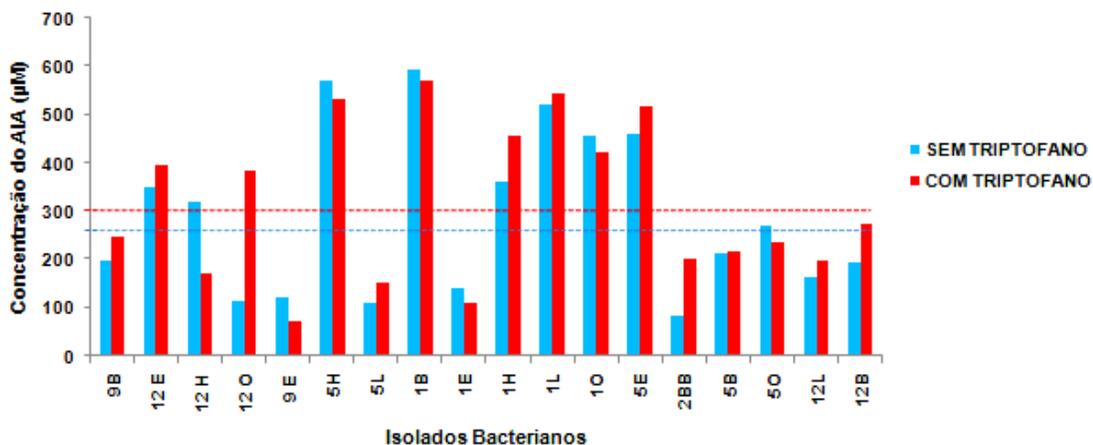


Figura 19: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P1) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo II.

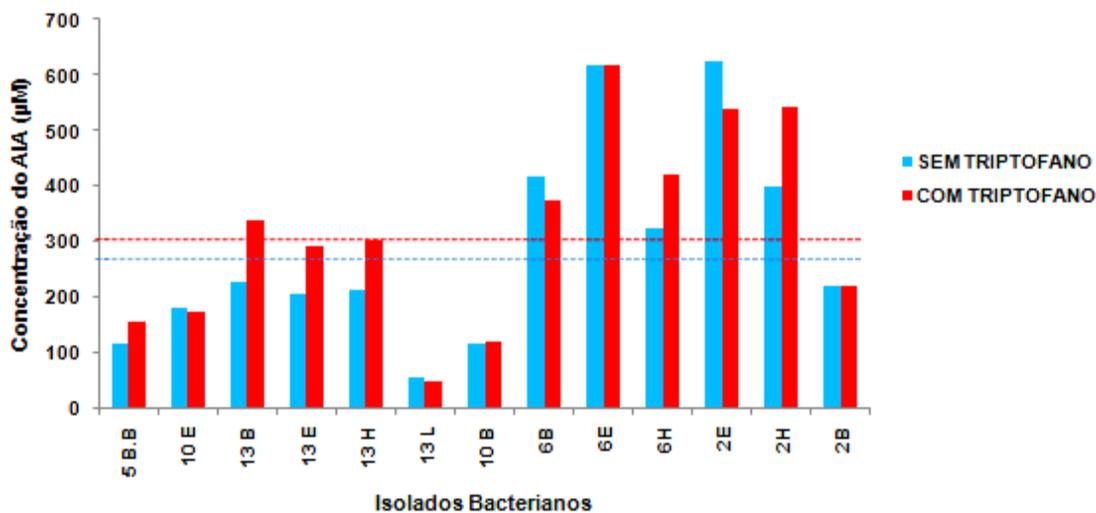


Figura 20: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P2) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo II.

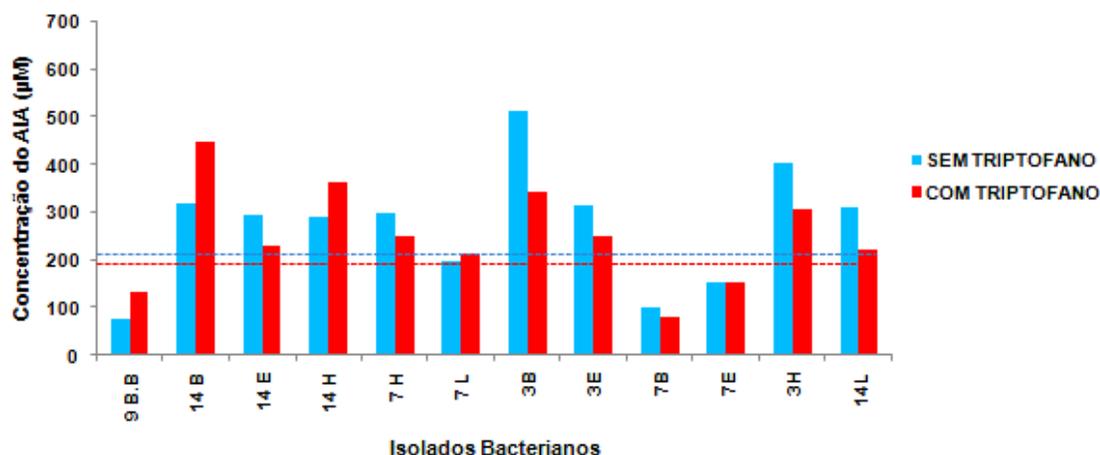


Figura 21: Produção de ácido indol acético por isolados da fração dos solo (P3) da Reserva Ecológica Estadual de Guaxindiba do grupo II.

4.5. Identificação taxonômica dos isolados

A identificação molecular das bactérias pelo sequenciamento do gene 16S rDNA (Tabela 11) resultou em 13 gêneros distribuídos em 25 táxons pertencentes aos filos Proteobactéria (76 % das linhagens), Firmicutes (16 %), Actinobactéria (4%) e Bacteroidetes (4%). Estes dados de sequenciamento são relativos apenas à parte das bactérias oriundas do grupo II (coleta de abril/2012) e cobrem 36% do universo de isolados, a análise de outras sequências está em curso.

Tabela 3: Identificação molecular dos isolados bacterianos, obtidos em amostras de serrapilheira (S) e diferentes profundidades de amostras de solo (P1: 0-10 cm; P2: 10-20 cm e P3: 20-40 cm), oriundos de Floresta de Tabuleiro da Estação Ecológica de Guaxindiba, baseados em suas sequências 16S rDNA com base em consultas BLAST

Código e origem do isolado	GenBank	Nº do acesso	Cobertura (bases)	Ident. (%)
7H - AM2 P3 (-5)	<i>Sphingobium</i> sp.	JQ433940.1	1441	99
11O - AM4 S (-6)	<i>Enterobacter</i> sp.	JN210900.1	1315	98
10B - AM3 P2 (-5)	<i>Burkholderia</i> sp.	AB299575.1	1581	99
8B - AM3 S (-5)	<i>Lactococcus lactis</i>	HM638424.1	1400	99
11E - AM4 S (-5)	<i>Novosphingobium</i> sp.	JQ316300.1	1349	99
13L - AM4 P2 (-6)	<i>Citrobacter</i> sp.	JQ765858.1	1378	99
11B - AM4 S (-5)	<i>Burkholderia</i> sp.	NR043890.1	1219	99
3B - AM1 P3 (-6)	<i>Burkholderia</i> sp.	NR025097.1	1520	99
13E - AM4 P2 (-5)	<i>Paenibacillus barcinonensis</i>	NR042272.1	1567	98
1L - AM1 P1 (-5)	<i>Pseudomonas mosselii</i>	NR024924.1	1543	98
12E - AM4 P1 (-5)	<i>Serratia nematodiphila</i>	NR044385.1	1519	99

2H - AM1 P2 (-5)	<i>Burkholderia diffusa</i>	NR042633.1	1520	99
11L - AM4 S (-6)	<i>Paenibacillus barcinonensis</i>	NR042272.1	1498	98
12H - AM4 P1 (-5)	<i>Novosphingobium panipatense</i>	NR044210.1	1482	99
12L - AM4 P1 (-6)	<i>Lysinibacillus boronitolerans</i>	NR041276.1	1502	99
1H - AM1 P1 (-5)	<i>Burkholderia diffusa</i>	NR042633.1	1452	99
1O - AM1 P1 (-5)	<i>Arthrobacter</i> sp.	NR025083.1	1347	98
8HB - AM4 S (-5)	<i>Chryseobacterium</i> sp.	NR042507.1	1404	99
8E - AM3 S (-5)	<i>Enterobacter asburiae</i>	NR024640.1	1419	98
2E - AM1 P2 (-5)	<i>Enterobacter ludwigii</i>	NR042349.1	1463	99
9E - AM3 P1 (-6)	<i>Enterobacter</i> sp.	NR024640.1	1570	99
3EB - AM2 S (-5)	<i>Enterobacter</i> sp.	NR042349.1	1437	99
13B - AM4 P2 (-5)	<i>Burkholderia arboris</i>	NR042634.1	1395	99
13BB - AM4 P2 (-6)	<i>Citrobacter</i> sp.	NR028894.1	1402	99
14L - AM4 P3 (-6)	<i>Burkholderia</i> sp.	NR042634.1	1330	99

No Filo Proteobactéria, predominante na serrapilheira (62,5% dos táxons) e em todas as profundidades amostradas (P1: 71,5%; P2: 86%; P3: 100%), isolados bacterianos das classes Alfa- (16%), Beta- (37%) e Gama-proteobactéria (47%) foram relatados. No Filo Firmicutes, todos isolados pertenceram à classe bacilli, isolados da serrapilheira e duas primeiras profundidades do solo. Já para os filios Actinobactéria e Bacteroidetes, respectivamente, um representante da classe Actinomycetales (isolado do solo 0-10 cm) e *Flavobacterium* (isolado da serrapilheira).

Dentre os gêneros bacterianos de ocorrência mais comuns destacaram-se *Burkholderia* (28%), presente na serrapilheira e em todas as profundidades de solo amostradas, *Enterobacter* (20%) presente na serrapilheira e em 0-10 e 10-20 cm, *Paenibacillus* (8%) isolado da serrapilheira e na camada de solo de 10-20 cm, *Citrobacter* (8%) presente na camada de 10-20 cm e *Novosphingobium* (8%), presente na serrapilheira e na camada de 0-10 cm. Os outros sete táxons com apenas um representante se concentraram, majoritariamente, na serrapilheira e na camada superficial em interface com a mesma (Tabela 11).

O gênero *Burkholderia* abriga um grande número de espécies de bactérias em bastonetes gram-negativas, móveis, aeróbicas obrigatórias, tanto associadas enfermidades no reino animal como vegetal, bem como algumas espécies importantes no sistema solo-planta em processos de biofertilização e bioremediação. Algumas espécies como *B. xenovorans*, *B. cepacia* e *B. fungorum* são conhecidas por sua capacidade de degradar compostos xenobióticos (Gibson

et al.,1993),como por exemplo, halogenados aromáticos das classes bifenilas policloradas (PCBs). Bactérias deste gênero têm sido consideradas habitantes comuns do solo e desempenham funções ambientais relevantes no ambiente solo-planta pela ampla capacidade de associação com diferentes espécies vegetais, induzindo a formação de nódulos radiculares em leguminosas, colonizando endofiticamente e epifiticamente diferentes plantas de interesse agroflorestal e como agentes de controle biológico (Estrada-de Los Santos et al., 2001).

Dentre as espécies de *Burkholderia* identificadas neste estudo, estão *Burkholderia diffusa* e *Burkholderia arboris*, ambas isoladas do compartimento solo. Estas espécies foram recentemente propostas por Vanlaere et al. (2008), a partir de isolados oriundos do complexo cepacia, associados a pacientes portadores de fibrose cística, água de rio, solo, resíduos industriais, entre outras fontes. *Burkholderia diffusa* é descrita como células aeróbias em bastão, não esporulantes, Gram-negativas. Possuem crescimento ótimo a 30 °C, embora estirpes pigmentadas não tenham sido detectadas e hemólise não tenha sido observada. Estirpes são capazes de assimilar glicose, L-arabinose, D-manose, D-manitol, N-acetilglucosamina, D-gluconato, caprato, adipato, L-malato, citrato e fenilacetato, mas não a maltose. A acidificação da glucose, maltose, lactose, sacarose e xilose são observadas, mas acidificação adonitol é dependente da estirpe. Nitrato é reduzido, positiva para a atividade das enzimas oxidase, beta-galactosidase e lisina descarboxilase, mas não ornitina descarboxilase, triptofanase, arginina dihidrolase ou urease. O teor de G+ C é 67% em mol. As estirpes foram isoladas de amostras de expectoração de pacientes com fibrose cística, amostras de sangue de pacientes com fibrose, solo e da água. A cepa é AU1075^T é a estirpe tipo (LMG 24065) e foi recuperada a partir de muco de um paciente com fibrose cística nos EUA em 1999 (Vanlaere et al., 2008).

Já *Burkholderia arboris* possui células em bastão aeróbias, não esporulantes e gram-negativas. Crescimento ótimo a 30 °C. Algumas estirpes são capazes de produzir um pigmento avermelhado após vários dias de crescimento, são capazes de assimilar glucose, D-manose, D-gluconato, adipato, L-malato, citrato. A assimilação de L-arabinose, D-manitol, N-acetilglucosamina, a maltose, o ácido capróico, o fenilacetato e a redução de nitrato são estirpe-dependente. A acidificação de glucose, sacarose, maltose, lactose e adonitol são observadas,

mas não da xilose. Atividades oxidase e beta-galactosidase estão presentes, mas não triptofanase, arginina dihidrolase ou atividade urease. O conteúdo G+ C é de 67% mol. As diferentes cepas foram isoladas do escarro de pacientes com fibrose cística e de fontes ambientais. A cepa é ES0263A^T(LMG 24066) é a estirpe-tipo (Vanlaere et al., 2008).

O gênero *Enterobacter* pertence à família Enterobacteriaceae e agrupa bactérias gram-negativas e anaeróbias facultativas. São bactérias com ampla ocorrência na natureza, sendo isoladas de água doce, solos, esgotos, vegetais, animais e fezes humanas (Madhaiyan et al., 2010). Algumas são agente patogênicos oportunistas, sendo a causa de queimaduras, ferimentos e infecções urinárias. Ocasionalmente, podem também, provocar septicemia e meningite. Este gênero é claramente separado de outros táxons bacterianos e forma um ramo distinto com 22 espécies, tendo *Enterobacter cloacae* como a espécie-tipo (Hormaeche e Edwards, 1960). É crescente o número de relatos de membros deste gênero em associação com plantas (Egamberdieva et al., 2008; Madhaiyan et al., 2010) com a descrição de efeitos benéficos sobre o crescimento da planta que incluem a produção de fitormônios, fixação biológica de nitrogênio e biocontrole (Götz et al., 2006). Em um trabalho conduzido por Vassileva et al. (1999), a bacterização de plantas de alface (*Lactuca sativa*) com células de *Enterobacter* formulada em capsulas de alginato melhorou a absorção de íons fosfato e estimulou micorrização das plantas.

Dentre as espécies de *Enterobacter* identificadas neste estudo, estão *Enterobacter asburiae* e *Enterobacter ludwigii*, respectivamente isoladas da serrapilheira e de amostras de solo (10-20 cm). *E. asburiae*, de acordo com Brenner et al. (1986) é uma nova espécie, que foi anteriormente alocada no grupo Entérico 17 e que consistia de 71 cepas, 70 das quais, isoladas de seres humanos (urina, aparelho respiratório, feridas e sangue), sem significado clínico. Estirpes desta espécie são positivas para os testes de vermelho de metila, a utilização de citrato, hidrólise de ureia, L-ornitina-descarboxilase, crescimento em KCN, produção de ácido e gás a partir de glicose e produção de ácido a partir de L-arabinose, celobiose, glicerol (negativa em 1 a 2 dias, positivo em 3-7 dias), a lactose, D-manitol, a alfa-metil-D-glicosídeo, D-sorbitol, sacarose, trealose e D-xilose. Exibem resultados negativos no teste de Voges-Proskauer e no teste para compostos indólicos, produzem H₂S, fenilalanina, L-lisina descarboxilase,

possuem lipases, ADNases, e produzem ácido a partir de adonitol, D-arabitol, dulcitol, eritritol, i(mio)-inositol e L-ramnose. Mais recentemente, isolados desta espécie têm recebido atenção destacada em diferentes estudos, envolvendo segurança alimentar na agricultura e aproveitamento de resíduos vegetais para produção de etanol de segunda geração (Ye et al., 2009; Bi et al., 2009). Uma combinação de *Enterobacter asburiae* JX1 com cinco bacteriófagos líticos foi avaliada para o controle de *Salmonella javiana* na rizosfera de plantas e em pré-e pós-colheita de tomate, com resultados promissores na redução da persistência de *Salmonella* pela ação antagônica do isolado JX1 (Ye et al., 2009). Já, o isolado JDR-1 de *E. asburiae*, obtido a partir de amostras de madeira, tem sido utilizado como um biocatalisador etanologênico para produção de combustíveis, a partir de resíduos agrícolas de origem vegetal, catalisando a hidrólise de hemicelulose (metilglucuronoxilose e xilose) e produzindo etanol e acetato. Interessante destacar que o isolado bacteriano *E. asburiae*, obtido no presente estudo, deriva da serrapilheira da Floresta da Mata do Carvão, sendo um componente da comunidade microbiana responsável pela decomposição dos resíduos vegetais, ciclagem dos nutrientes e sustentação da floresta na área da reserva.

Enterobacter ludwigii foi descrito com base nas características de 16 estirpes isoladas, a partir de casos clínicos (Hoffmann et al., 2005). Essas bactérias formam um grupo genético distinto em análises filogenéticas da estrutura populacional do complexo de *Enterobacter cloacae*. Caracterizam-se como bactérias bastonetes gram-negativos com motilidade, metabolismo fermentativo e características gerais de *Enterobacter cloacae*. *E. ludwigii* podem ser diferenciados a partir das outras espécies *Enterobacter* pelo seu crescimento em mio-inositol e 3-O-metil-D-glucopiranosose. A cepa EN-119 é a estirpe-tipo (DSM 16688^T). Dentre as características de interesse biotecnológicas relacionadas à espécie, estudos de bioremediação têm sido conduzidos com a estirpe de *E. ludwigii* Ez-185-17 (isolado dos nódulos radiculares de plantas colhidas na área da usina nuclear de Chernobyl). Neste estudo, Pau-Roblot et al. (2013) isolaram e caracterizaram quimicamente um exopolissacarídeo de alta massa molecular (EPS) e evidenciaram suas propriedades de ligação com metais pesados, reduzindo o sequestro de cádmio (Cd) em sementes de plantas de linho (*Linum usitatissimum*). Em outro estudo conduzido por Yousaf et al. (2011), foi avaliada a capacidade de colonização endofítica de três isolados de *E. ludwigii*

em plantas de azevém (*Lolium multiflorum*), cornichão (*Lotus corniculatus*) e alfafa (*Medicago truncatula*) cultivadas em solo desinfestado, enriquecida com 1% de diesel. Todas as estirpes foram capazes de colonizar eficientemente a rizosfera e interior das plantas e degradar hidrocarbonetos (taxas de degradação de óleo diesel até 68%), expressando os genes *CYP153* (degradação de alcanos) em diferentes compartimentos das plantas, indicando um papel ativo na degradação de diesel, em associação com plantas.

Na bactéria psicrotrófica, *Enterobacter ludwigii* estirpe PAS1 foi identificada uma proteína “cold shock protein E” e sua estrutura elucidada por análises de biologia computacional. Há um interesse considerável no uso de bactérias psicrotróficas para fixação de nitrogênio, especialmente em regiões montanhosas, assim, uma melhor compreensão dos mecanismos de adaptação ao frio se justifica (Kandasamy et al., 2013).

Entre os táxons com ocorrência intermediária, temos *Paenibacillus*, *Citrobacter* e *Novosphingobium* (8%), majoritariamente associados a serrapilheira e na camada de solo de 0-10 cm.

Paenibacillus é um gênero de bactéria anaeróbia facultativa, formadoras de endósporos, inicialmente incluído no gênero *Bacillus* e, posteriormente, reclassificada como um gênero separado (Ash et al., 1993). É um gênero de ampla ocorrência na natureza, com espécies isoladas de solo, água, rizosfera, material vegetal, associados epifiticamente e endofiticamente a plantas, larvas de insetos, bem como isolados clínicos (Lal e Tabacchioni, 2009; Ouyang et al., 2008).

Várias espécies de *Paenibacillus* estão relacionadas à promoção do crescimento vegetal, atuando simultaneamente como biofertilizantes (solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio e produção hormonal) e antagonistas (biopesticidas) de patógenos radiculares pela produção de antibióticos, sideróforos ou enzimas líticas contra bactérias, fungos e nematoides fitopatogênicos (McSpadden Gardener, 2004). Outro aspecto relevante para fertilidade dos solos em diferentes biomas reside da capacidade de isolados de *Paenibacillus* sp. em degradar substâncias húmicas do solo e promover uma ciclagem mais eficiente do carbono orgânico (Park e Kim, 2013).

Isolado da serrapilheira e da camada de 10-20 cm do solo da Mata do Carvão, *Paenibacillus barcinonensis* é reconhecida como uma bactéria produtora de xilanase. Trata-se de uma bactéria gram-positiva, formadora de endósporos e

primeiramente isolada de um campo de arroz (Sánchez et al., 2005). Possui crescimento entre 10 e 40 graus °C e em presença de lisozima ou de 5% (w / v) de NaCl. A estirpe tipo é a BP-23^T (Sánchez et al., 2005). Aplicações biotecnológicas mais recentes apontam para a clonagem e expressão heteróloga da enzima xilanase A de *P. barcinonensis* em *Escherichia coli* e atividade elevada a 60 °C, em ambiente alcalino (acima de pH 9,5), revelando-se como candidata para despolimerização da madeira de eucalipto (liberação de xilo-oligômero) na indústria de papel e celulose (Valenzuela et al., 2010). Asha et al. (2012) purificaram e caracterizaram na mesma espécie (estirpe MG7) uma celulase com elevada atividade catalítica e estável em temperaturas elevadas, variações de pH, presença de surfactantes e íons metálicos, indicando que a enzima celulase MG7 é uma boa candidata para aplicações biotecnológicas em programas de degradação de celulose.

Citrobacter é um gênero de bactérias aeróbicas, gram-negativas coliformes pertencentes à família Enterobacteriaceae. Proposto pela primeira vez como *Citrobacter freundii* por Werkman e Gillen (1932). Possui atualmente, dez espécies reconhecidas, incluindo *C. freundii* MTCC 1658, este isolado de canal de água nos Estados Unidos. As espécies *C. amalonaticus*, *C. koseri* e *C. freundii* utilizam citrato como única fonte de carbono. Espécies de *Citrobacter* são diferenciados pela sua capacidade para converter o triptofano em indol, fermentar a lactose, e utilizar malonato (Lipsky et al., 1980). Bactérias do gênero são capazes de acumular urânio através da construção de complexos com íons fosfatos. Estas bactérias podem ser encontradas no solo, água, águas residuais, e associadas ao intestino humano. Uma versão preliminar do genoma sequenciado de *Citrobacter freundii* estirpe MTCC 1658T foi publicada por Kumar et al. (2013). Dentre os genes destacam-se aqueles relacionados à decomposição da ureia, quitina e utilização de N-acetilglicosamina, complexo desidrogenase, a via metabólica de Entner-Doudoroff, glicólise e gliconeogênese, as vias das pentoses fosfato, o ciclo do ácido tricarbóxico, absorção e utilização de lactose e galactose, o metabolismo do ácido siálico, síntese de riboflavina, dois sistemas para o metabolismo do piruvato, dentre outros genes relevantes.

Novosphingobium é um gênero de bactérias Gram-negativas, que inclui espécies com potencial para bioremediação de ambiente contaminados (Liu et al., 2005), em face de sua capacidade de degradar compostos aromáticos (fenol,

anilina, nitrobenzeno e fenantreno). Estas bactérias são usualmente encontradas em substratos com alta relação C/N, ambientes degradados e são capazes de metabolizar diversos poluentes industriais. Várias destas espécies são capazes de acumular poli-hidroxicanoato (PHA) e a espécie *N. nitrogenifigens* (isolada de águas de lavagem de fábrica de papel – meio com alta relação C/N). O perfil fisiológico destas bactérias é compatível com o ambiente de decomposição na interface serrapilheira-solo, onde a liberação de nutrientes depende da ação microbiana sobre C-recalcitrante como lignina, suberina, polifenóis em ambiente com baixa concentração de nitrogênio.

Novosphingobium panipatense foi originalmente isolado de solo contaminado com óleo, formando colônias amarelo-pigmentadas. As bactérias são gram-negativas e halofílicas. Em estudos polifásicos, a estirpe SM16T exibiu uma gama de propriedades fenotípicas e quimiotaxonômicas consistentes com as de membros do gênero *Novosphingobium*, por exemplo a presença de espermidina, como a principal poliamina na parede da célula (Gupta e Lal, 2009).

No grupo minoritário, temos *Lactococcus lactis*, *Chryseobacterium sp.*, *Pseudomonas mosselii*, *Serratia nematodiphila*, *Lysinibacillus boronitolerans*, *Arthrobacter sp.* e *Sphingobium sp.*

Lactococcus é um gênero de bactérias com morfologia de cocos gram-positivos, não móveis, catalase negativos e encontrados isoladamente, em pares ou em cadeias, e inicialmente incluídos no gênero *Streptococcus* Grupo N1 (Schleifer et al., 1985). Relatados como homofermentadores por produzirem o ácido láctico como produto único, a partir da fermentação da glicose, possui estirpes conhecidas por crescer a 7 °C. Sete espécies de *Lactococcus* são reconhecidos atualmente, juntamente com quatro subespécies. No presente estudo, relatou-se a ocorrência da espécie *Lactococcus lactis* na serrapilheira. Esta espécie é relatada como uma das principais bactérias lácteas de interesse industrial, sendo comumente utilizada como cultura iniciadora na indústria de laticínios para a fabricação de produtos lácteos fermentados (De Vos e Simons, 1994). Além disso, esta espécie ganhou notoriedade por ser o primeiro organismo, geneticamente modificado, a ser utilizado vivo no tratamento de doenças humanas (Doença de Crohn), uma inflamação intestinal crônica, que atinge geralmente o íleo e o cólon (Braat et al., 2006)

Lactococcus lactis é uma das espécies de bactérias gram positivas de baixo conteúdo de GC mais bem caracterizadas com relação a sua genética, metabolismo e biodiversidade (Van Hylckama Vlieg et al., 2006). Isoladas majoritariamente de ambiente de produção de laticínios e material vegetal, representam um caso emblemático de erosão do genoma ou evolução reductiva, em que isolados oriundos de produtos lácteos evoluíram a partir de isolados de plantas, através da perda ou repressão de genes não expressos em bactérias cultivadas em leite (Bachmann et al., 2012).

Chryseobacterium é um gênero de bactérias gram-negativas em forma de bastonete, não formadoras de esporos e não móveis, pertencente à família Flavobacteriaceae. Caracterizam-se por bactérias exibindo colônias com pigmentos amarelos ou nenhum pigmento (colônias brancas). Várias bactérias formalmente classificados no gênero *Flavobacterium* foram reclassificados dentro do gênero *Chryseobacterium* (Vandamme et al., 1994). O gênero possui ampla distribuição, incluindo solo, plantas, água fresca, ambiente marinho, águas residuais e fontes e alimento como leite e frango, e isolados associados a animais doentes e ambientes hospitalares (Vandamme et al., 1994). A atividade queratinolítica de metaloproteases isoladas desta bactéria são de interesse no tratamento do couro e outras aplicações agrícolas e industriais (Wang et al., 2008).

Pseudomonas é um gênero de bactérias Gram-negativas aeróbias, pertencente à família Pseudomonadaceae, contendo 191 espécies válidas e uma grande diversidade metabólica, com grande capacidade de colonizar a uma vasta gama de nichos no ambiente, incluindo o solo e as plantas (Palleroni, 2010). *Pseudomonas mosselii* foi descrita a partir de 22 estirpes fluorescentes reconhecidas como outras espécies de *Pseudomonas* de origem clínica. Doze dos 22 isolados clínicos foram agrupados dentro de um grupo específico (grupo IV), fenotipicamente diferente de todos os outros grupos e subgrupos de pseudomonas fluorescentes. Com base em atributos fenotípicos, hibridação de DNA-DNA e análises filogenéticas, uma nova espécie foi proposta, com a cepa de *P. mosselii* CFML 90 83^T como estirpe tipo (ATCC BAA-99^T) = CIP 105259T). As cepas de *P. mosselii* são fenotipicamente homogêneas e podem ser diferenciadas de outras espécies fluorescentes por várias características fenotípicas, a

tipificação da estrutura da cadeia de peptídeos da pioverdina (Dabboussi et al., 2002).

Serratia é um gênero de bactérias anaeróbias facultativas, bastonetes gram-negativos, e pertencentes à família Enterobacteriaceae. As espécies mais comuns são *S. marcescens*, *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea* e *S. odoriferae* (Saito, 1965). Os membros deste gênero produzem pigmento vermelho (prodigiosina) e se distinguem de outros membros da família Enterobacteriaceae pela produção de três enzimas, DNase, lipase e gelatinase (Ashelford et al., 2002). *Serratia nematodiphila* é uma bactéria em forma de bastonete, gram-negativa, possuidora de pigmento vermelho, móvel, fluorescente, com um único flagelo lateral, e originalmente isolada do intestino do nematódeo *Heterorhabditoides chongmingensis* (Zhang et al., 2009). Esta associação simbiótica com nematoides, não foi relatada para nenhuma das espécies do gênero *Serratia*. A estirpe padrão é DZ0503SBS1^T. Atividade larvicida contra os mosquitos *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* e *Culex quinquefasciatus* foi demonstrada em *S. nematodiphila* estirpe SV6, indicando seu potencial como inseticida bacteriano para o controle de doenças transmitidas por vetores do mosquito (Patil et al., 2012).

Lysinibacillus boronitolerans foi descrita por Ahmed et al., (2007) com base em três isolados obtidos do solo. Estas bactérias são bastonetes móveis, gram-positivas, formadoras de esporos. Estas toleram 5% NaCl e 150 mM de boro. A temperatura ótima para o crescimento é de 37 ° C (faixa de 16-45 °C) e o pH ótimo foi de 7,0 - 8,0 (faixa de pH 5,5-9,5). Com base na composição dos peptidoglicanos e as análises filogenéticas e fisiológicas, foi proposta uma nova espécie com a estirpe tipo 10a^T. O genoma desta bactéria foi recentemente sequenciado (isolado F1182), obtido a partir de um produto de soja fermentado. A sequência do genoma continha 4,46 Mbp com um teor de 37,5% de G+ C. O genoma de *L. boronitolerans* F1182 possui um grande número de genes relacionados com o metabolismo de proteínas e carboidratos, capazes de utilizar uma diversidade de substratos no ambiente, tais como ureia ou etanolamina (Nam et al., 2012). Os autores afirmam que uma análise mais detalhada desse genoma vai fornecer informações úteis para a aplicação de microrganismos na indústria de alimentos e na agricultura.

Arthrobacter é um gênero de bactéria que é comumente encontrada no solo. Todas as espécies deste gênero são obrigatórios aeróbios gram-positivos, formando bastões durante o crescimento exponencial e cocos em sua fase estacionária. Suas colônias possuem um centro metálico esverdeado em meio caldo piridona quando incubada a 20 °C. Este gênero é diferenciado por causa de seu processo de divisão celular em que os bastonetes dão origem a cocus gerando formas em “V”. Outras características notáveis são que ele pode utilizar piridona como a sua única fonte de carbono, e que os seus cocus são resistentes à dessecação e fome. O gênero *Arthrobacter* foi proposto por Conn e Dimmick (1947). As espécie tipo *Arthrobacter globiformis*, e as espécies estreitamente relacionadas são caracterizados por peptidoglicano tipo A3α com uma ponte interpeptídeo, contendo 1-4 moléculas de L-alanina (Collins et al.,1977) e MK-9 (H2), como o principal menaquinona. Aplicações biotecnológicas incluem eventos de bioremediação como a redução de cromo hexavalente por *A. crystallopoietes* (Camargo et al., 2003).

De acordo com Takeuchi et al. (2001), o gênero *Sphingomonas* está arranjado em quatro grupos. Algumas diferenças quimiotaxonômicas e fenotípica foram observadas entre estes agrupamentos e três novos gêneros, *Sphingobium*, *Novosphingobium* e *Sphingopyxis* foram propostos, além do gênero *Sphingomonas*. *Sphingobium* foi proposto para acomodar *Sphingomonas chlorophenolica*, *Sphingomonas herbicidovorans yanoikuyae* e *Sphingomonas*. O gênero abarca bactérias resistentes a elevados níveis de cobre como *Sphingobium cupriresistens*, isolado de solo em minas de cobre (Li et al., 2013) e espécies capazes de degradar fenantreno como *Sphingobium fuliginis* (Prakash e Lal, 2006).

A ciclagem de nutrientes e diferentes processos microbianos, com a fixação biológica e nitrogênio e a solubilização de fósforo são fundamentais para a sustentabilidade do ecossistemas. No caso das florestas tropicais, predominantemente formadas em solo de baixa fertilidade, a importância destes processos é ainda mais acentuada, apontando para a importância da caracterização taxonômica e funcional da comunidade microbiana associada ao processo de decomposição e disponibilização de nutrientes. No presente estudo, os primeiros passos nesta direção foram dados na caracterização da comunidade bacteriana cultivável associada ao sistema solo/serrapilheira. Ademais, este

representa o primeiro estudo com o objetivo de caracterizar microrganismos do solo, presentes na área da Mata do Carvão, contribuindo para descrição da diversidade na área, conservação de espécies e gerando dados possíveis de serem correlacionados com as comunidades vegetais, dinâmica da serrapilheira e os fatores edáficos relacionados à fração mineral e orgânica. Por fim, o isolamento e caracterização das bactérias produzem potenciais produtos para aplicação em diversas áreas.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

A Mata Atlântica é reconhecida como um dos biomas brasileiros mais ricos em espécies de plantas e animais, porém, a maior parte da sua vegetação natural foi substituída, devido às intervenções humanas, ameaçando a sua biodiversidade. As diversas informações sobre a sua diversidade vegetal contrasta com os estudos reduzidos sobre a diversidade de microrganismos existentes no solo deste bioma. Estima-se que a Mata Atlântica possa abrigar entre dois e treze milhões de novas espécies bacterianas somente na filosfera. Esta imensa diversidade não é explorada adequadamente e, presumivelmente, é ainda maior na interface serrapilheira/solo, gerando oportunidades para descrição de novas espécies de micróbios, com impactos na conservação de nosso patrimônio genético e possíveis aplicações biotecnológicas para agricultura e outros domínios da ciência e tecnologia. Diante disto, propõe-se neste trabalho a quantificação de bactérias heterotróficas totais e bactérias fixadoras de nitrogênio. Subsequentemente, a partir dos isolamentos e caracterização microbiológica das bactérias, foram conduzidos ensaios de laboratório com o intuito de explorar as propriedades relacionadas à promoção do crescimento vegetal pela caracterização de sua capacidade de fixar biologicamente o nitrogênio, secretar compostos indólicos, solubilizar minerais fosfatados e de zinco, gerando potenciais candidatos para composição de insumos biológicos. Também foram realizadas análises pra identificação molecular das bactérias da matéria orgânica, buscando relacionar com as características fenotípicas e genotípicas dos isolados bacterianos e sua diversidade. Neste estudo, foi obtido um total de 232 isolados

bacterianos para os dois períodos distintos de tempo de coleta. No primeiro grupo (coleta setembro/2011) encontram-se 169 isolados bacterianos (130 isolados não diazotróficos e 39 isolados diazotróficos) que foram isolados após períodos de seca nas áreas amostradas. No segundo grupo (coleta abril/2012) foram obtidos 63 isolados bacterianos (todos não diazotróficos). Mesmo a coleta sendo feita após períodos expressivos de chuva, houve uma queda na densidade de populações neste período, advindo provavelmente do acúmulo de água, reduzindo a aeração e causando anoxia. A estimativa do tamanho das populações bacterianas na condição de potencial basal (pB) e no potencial carbono induzido (pC) na serrapilheira (S) e nas diferentes profundidades no solo (P1, P2 e P3) revelaram os maiores níveis populacionais de bactérias diazotróficas na fração serrapilheira (10^3 a 10^4 células por grama de serrapilheira) e populações não detectáveis em diferentes profundidades. As estimativas pC indicaram incremento das populações de diazotróficos em todo perfil do solo (de até quatro unidades logarítmicas) analisado e o aparecimento de populações detectáveis no P1 e P2, apontando para limitação de sua atividade pela limitação de carbono prontamente assimilável. Dos isolados obtidos no grupo I (set/2011), 75% apresentaram características morfológicas de bastões (curtos ou longos) e 25% apresentaram características morfológicas esféricas (cocos e duplo cocos) e 89% foram caracterizadas como Gram-negativas e 11% como Gram-positivas. Quanto à solubilização de P e Zn, respectivamente, 91 e 67% dos isolados bacterianos foram capazes de solubilizar. Destacaram-se os isolados 4 RF, 10 DB, 2 DB que se encontram na fração serrapilheira (S), apresentando alto índice de solubilização de fosfato de cálcio ($\text{Ca}(\text{PO})_4$), assim como os isolados 10 A (P1), 7 B.B, 11 C e 16 D.B (P2) e 41 B (P3). Os isolados inoculados em meio a base de óxido de zinco (ZnO) mais promissores para a solubilização desse nutriente são os isolados 4 A, 5D.B, 11D.B, 6D.B, 8D.B da fração serrapilheira, 5 B.B, 11 A, 12 A, 13 A da primeira profundidade do solo (P1), 7 B.B, 29 A, 23 A, 22 A, 24 A, 21 A da segunda profundidade (P2) e 37 B, 37 A, 40 A, 44 A, 45 A, 2 H.F da última profundidade do solo analisada (P3). No segundo grupo de isolados (coleta abr/2012), dos 63 isolados bacterianos, 60% se apresentam na forma bastão e 40% na forma esférica (cocos e duplo cocos), 62% das bactérias foram caracterizadas como Gram-negativas e 38% como Gram-positivas. Quanto à solubilização de P e Zn, respectivamente, 56 e 41% foram positivos para esta

característica, com os isolados 10 E (P2), 4L (S) e 14H (P3) com os maiores índices de solubilização de fosfato de cálcio. Destacam-se na solubilização de óxido de zinco os isolados 1 B (P1), 2 E (P2), 14 H (P3), 6 E (P2), 13 E (P2) e 14 B (P3). Todos os isolados bacterianos, na presença ou ausência de triptofano foram capazes de produzir compostos indólicos nos dois grupos. A quantificação de equivalente AIA neste estudo variou de 15,3 a 688,0 μM em meio sem triptofano e de 12,8 a 603,2 μM em meio na presença de triptofano para o grupo I e 53,5 a 625,0 μM em meio sem triptofano e 48,0 a 619,2 μM em meio acrescido de triptofano para o grupo de isolados II. Identificação molecular das bactérias pelo sequenciamento do gene 16S rDNA resultou em 13 gêneros distribuídos em 25 táxons pertencentes aos filos Proteobacteria (76 % das linhagens), Firmicutes (16 %), Actinobacteria (4%) e Bacteroidetes (4%). Estes dados de sequenciamento são relativos apenas às bactérias oriundas do grupo II (coleta de abril/2012) e cobrem 36% do universo de isolados, a análise de outras sequências está em curso.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBRUZZINI, T. F. (2011) *Qualidade e Quantidade da Matéria Orgânica do Solo em Cultivo Concecional e Orgânico de Cana-de-açúcar*. Dissertação (Mestrado Ciências do Solo) – Piracicaba – SP, Universidade de São Paulo – USP, 93p.
- ABD-ALLA, M. H. (1994) Use of Organic Phosphorus by *Rhizobium Leguminosarum* Biovar Viceae Phosphatases. *Biology Fertility of Soils*, 18:216–218.
- AHMAD, F., AHMAD, I., KHAN, M. S. (2005) Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of *Azotobacter* and Fluorescent *Pseudomonas* in the Presence and Absence of Tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29:29-34.
- AHMED, I., YOKOTA, A., YAMAZOE, A., FUJIWARA, T. (2007) Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov., and Transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 5, 57:1117-1125.
- ALEXANDER, M. (1980) *Introducción a la Microbiología del Suelo*. AGT editor, México, 491 p.
- ALI, B., SABRI, A. N., LJUNG, K., HASNAIN, S. (2008) Auxin Production by Plant Associated Bacteria: Impact on Endogenous IAA Content and Growth of *Triticum Aestivum* L. *Letters in Applied Microbiology*, 48:542-547.
- ALTSCHUL, S. F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E. W., LIPMAN, D. J. (1990) Basic local alignment search tool. *Journal Molecular Biology*. 215, 403-410.
- AGUIAR, K. P. (2011) *Prospecção de Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal Associadas a Vermicompostos*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 100p.

- ARCHANJO, K. M. P. de A., DAN, M. L., NASCIMENTO, M. T. (2009) Composição Florística de Fragmentos Florestais da Microbacia Brejo da Cobiça, São Francisco do Itabapoana, RJ. Anais do III Congresso Latino Americano de Ecologia, São Lourenço – MG: p. 1-4.
- ARKHIPOVA, T. N., VESELOV, S. U., MELENTIEY, A. I., MARTYNENKO, E. V., KUDOYAROVA, G. R. (2005) Ability of Bacterium *Bacillus Subtilis* to Produce Cytokinins and to Influence the Growth and Endogenous Hormone Content of Lettuce Plants. *Plant & Soil*. 272:201–209.
- ASH, C., PRIEST, F. G., COLLINS, M. D. (1993) Molecular Identification of rRNA Group 3 Bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) Using a PCR Probe Test. Proposal for the Creation of a New Genus *Paenibacillus*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 64:253-260.
- ASHA, B. M., REVATHI, M., YADAV, A., SAKTHIVEL, N. (2012) Purification and Characterization of a Thermophilic Cellulase from a Novel Cellulolytic Strain, *Paenibacillus barcinonensis*. *Journal of Microbiology Biotechnology*, 22:1501-1509.
- ASHELFORD, K.E., FRY, J. C., BAILEY, M. J., DAY, M. (2002) Characterization of *Serratia* Isolates from Soil, Ecological Implications and Transfer of *Serratia proteamaculans* subsp. *Quinovora* Grimont et al. 1983 to *Serratia quinivorans* corrig., sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 6, 52: 2281-2289.
- ASSUMPTÃO, L. de C.; LACAVA, P. T.; DIAS, A. C. F.; AZEVEDO, J. L. de; MENTEN, J. O. M. (2009) Diversidade e Potencial Biotecnológico da Comunidade Bacteriana Endofítica de Sementes de Soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, n. 5, 44:503-510.
- BACHMANN, H., STARRENBURG, M. J. C., MOLENAAR, D., KLEEREBEZEM, M., VAN HYLCKAMA VLIEG, J. E. T. (2012) Microbial Domestication Signatures of *Lactococcus lactis* can be Reproduced by Experimental Evolution. *Genome Research*, 22:115–124.
- BAHIA FILHO, A. F. C., BRAGA, J. M., RESENDE, M., RIBEIRO, A. C. (1983) Relação entre adsorção de fósforo e componentes mineralógicos da fração argila de Latossolos do Planalto Central. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 7: 221-226.
- BALDANI, V. D. L. (1996) *Efeito da Inoculação de Herbaspirillum spp no Processo de Colonização e Infecção de Plantas de Arroz, Ocorrência e Caracterização Parcial de uma Nova Bactéria Diazotrófica*. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, Seropédica, 238p.
- BALDOTO, L. E. B. (2009) *Estrutura e Fisiologia da Interação entre Bactérias Diazotróficas Endofíticas e Epifíticas com Abacaxizeiro Cultivar Durante Aclimatização*. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de Plantas) –

Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 149p.

- BALOTA, E. L., LOPES, E. S., HUNGRIA, M., DÖBEREINER, J. (1995) Interações e Efeitos Fisiológicos de Bactérias Diazotróficas e Fungos Micorrízicos Arbusculares na Mandioca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, n. 11, 30:1335-1345.
- BARBER, S. A. (1995) Soil Nutrient Bioavailability: A Mechanistic Approach. 2. ed. New York, John Wiley & Sons. 414p.
- BARRETO, P. A. B., GAMA-RODRIGUES, E. F. da, GAMA-RODRIGUES, A. C. da, BARROS, N. F. de, FONSECA, S. (2008) Atividade Microbiana, Carbono e Nitrogênio da Biomassa em Plantações de Eucalipto, em Sequência de Idades. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32:611-619.
- BATISTA, S. B. (2010) Análise Fenotípica e Genotípica de Bactérias Isoladas do Solo da Floresta Nacional dos Tapajós, Pará Brasil, Sob Efeito de Estresse Hídrico. *Revista Uniara: Revista do Centro Universitário de Araraquara*, n.1, 13:36-48.
- BAYER, C., MIELNICZUK, J. Dinâmica Função da Matéria Orgânica. In: SANTOS, G. de A.; SILVA, L. S. da; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. de O. (Eds.). (2008) *Fundamentos de matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Metrópole, cap.2, p.7-18.
- BECKING, J. H. (1991) The Family Azotobacteraceae. In: Balows, A.; Tripper, H.G.; Dworkin, M.; Harder, W.; Schleider, K.-H., Ed. *The Prokaryotes*. 2.Ed. New York: Springer-Verlag. p. 3144-3170.
- BERRAQUERO, F. R., BAYA, A. M., CORMENZANA, A. R. (1976) Establecimiento de indices para el estudio de la solubilizacion de fosfatos por bacterias del suelo. *Ars Pharmaceutica*, 17:399-406.
- BI, C., RICE, J. D., PRESTON, J. F. (2009) Complete Fermentation of Xylose and Methylglucuronoxlyose Derived from Methylglucuronoxylan by *Enterobacter asburiae* Strain JDR-1. *Applied Environmental Microbiology*, 75:395-404.
- BINI, D., FIGUEIREDO, A. F., SILVA, M. C. P. da, VASCONCELOS, R. L. de FIGUEIREDO, CARDOSO, E, J, B, N. (2012) Microbial Biomass Activity in Litter During the Initial Development of Pure and Mixed Plantations of *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37:76-85.
- BRAAT, H., ROTTIERS, P., HOMMES, D. W., HUYGHEBAERT, N., REMAUT, E., REMON, J. P., VAN DEVENTER, S. J. H., NEIRYNCK, S., PEPPELENBOSCH, M. P., STEIDLER, L. (2006) A Phase I Trial with Transgenic Bacteria Expressing Interleukin-10 in Crohn's Disease. *Clinical Gastroenterology Hepatology*, n. 6, 4: 754–759.

- BRENNER, D. J., McWHORTER, A. C., KAI, A., STEIGERWALT, A. G., FARMER, J. J. (1986) *Enterobacter asburiae* sp. nov., a New Species Found in Clinical Specimens, and Reassignment of *Erwinia dissolvens* and *Erwinia nimipressuralis* to the Genus *Enterobacter* as *Enterobacter dissolvens* comb. nov. and *Enterobacter nimipressuralis* comb. Nov. *Journal of Clinical Microbiology*, n. 6, 23:1114–1120
- BRIC, J. M.; BOSTOCK, R. M.; SILVERSTONE, S. E. (1991) *Rapidin Situ Assay for Indoleacetic Acid Production by Bacteria Immobilized on a Nitrocellulose Membrana. Applied and Environmental Microbiology*. Washington, n. 2, 57:535-538.
- BROADLEY, M. R., WHITE, P. J., HAMMOND, J. P., ZELKO, I., LUX, A. (2007) Zinc in Plants. *New Phytologist*, 173: 677–702.
- BRUN, E. J. (2004) *Biomassa e Nutrientes na Floresta Estacional Decidual, em Santa Tereza, RS*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria – RS, 136p.
- CAMARGO, F. A. O., BENTO, F. M., OKEKE, B. C., FRANKENBERGER, W. T. (2003) Hexavalent Chromium Reduction by an Actinomycete, *Arthrobacter crystallopoietes* ES 32. *Biological Trace Element Research*, n. 2, 97:183–194.
- CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A. (2005) *Humosfera: Tratado Preliminar Sobre a Química das Substâncias Húmicas*. Seropédica e Campos dos Goytacazes. 309 p.
- CARDOSO, E. L., SILVA, M. L. N., MOREIRA, F. M. de S., CURTI, N. (2009) Atributos Biológicos Indicadores da Qualidade do Solo em Pastagem Cultivada e Nativa no Pantanal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, n.6, 44:631-637.
- CERIGIOLI, M. M. (2005) *Diversidade de Bactérias Endofíticas de Raízes de Milho (Zea mays L.) e Potencial para Promoção de Crescimento*. Tese (Doutorado em Ciências no Programa de Pós-Graduação em Genética e Evolução do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde) - São Carlos- SP, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, 132p.
- CHEN, Y. P., REKHA, P. D., ARUN, A. B., SHEN, F. T., LAI, W. A., YOUNG, C. C. (2006) Phosphate Solubilizing Bacteria From Subtropical Soil and Their Tricalcium Phosphate Solubilizing Abilities. *Applied Soil Ecology*, 34:33–41.
- COLLINS, M. D., PIROUZ, T., GOODFELLOW, M., MINNIKIN, D. E. (1977) Distribution of Menaquinones in Actinomycetes and Corynebacteria. *Journal of General Microbiology*, 100:221–230.
- CONN, H. J., DIMMICK, I. (1947) Soil Bacteria Similar in Morphology to *Mycobacterium* and *Corynebacterium*. *Journal of Bacteriology*, 54:291–303.

- COSTA, A. S. V. da, GALVÃO, E. R., LOVO, I. C., JUNIOR, M. J. F., ALMEIDA, L. L., BENEVIDES, G. (2002) Efeitos do Resíduo de Celulose nas Características Químicas dos Solos e no Desenvolvimento de Culturas Agrícolas. ABTCP, 35º Congresso e Exposição Anual de celulose e Papel, SP.
- CRASWELL, E. T., LEFROY, R. D. B. (2001) The Role and Function of Organic Matter in Tropical Soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, Dordrecht, n.1, 61: 7-18.
- CUNHA, G. C. da, GRENDENE, L. A., DURLO, M. A., BRESSAN, D. A. (1993) Dinâmica Nutricional em Floresta Estacional Decidual com Ênfase aos Minerais Provenientes da Deposição da Serapilheira. *Ciência Florestal*, Santa Maria, n.1, 3:35-64.
- CARVALHO, E. C. (2012) Identificação Fenotípica e Molecular de Bactérias Patogênicas Associadas à Criação de Peixes Amazônicos. Tese (Mestrado em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva) – Manaus – AM, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, 120p.
- DABBOUSSI, F., HAMZE, M., SINGER, E., GEOFFROY, V., MEYER, J., IZARD, D. (2002) *Pseudomonas mosselii* sp. nov., a Novel Species Isolated from Clinical Specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 2, 52: 363-376.
- DALLA SANTA, O. R., HERNÁNDEZ, R. F., ALVAREZ, G. L. M., RONZELLI JUNIOR, P., SOCCOL, C. R. (2004) Azospirillum sp. Inoculation in Wheat, Barley and Oats Seeds Greenhouse Experiments. *Brazilian Archives of Biology Technology*, 47:843-850.
- DE VOS, W. M., SIMONS, G. F. M. (1994) Genetics and Biotechnology of Lactic Acid Bacteria. eds. Gasson, M. J. de Vos, W. M. Gene Cloning and Expression Systems in *Lactococci*. Blackie Academic & Professional, pg. 52 – 53.
- DOBBELAERE, S., VANDERLEYDEN, J., OKON, Y. (2003) Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22:107-149.
- DÖBEREINER, J. (1997) A importância da Fixação Biológica de Nitrogênio para a Agricultura Sustentável. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento - Encarte especial*, 1:2-3.
- DÖBEREINER, J., RUSCHEL, A. P. (1958) Uma Nova Espécie de Beijerinckia. *Revista de Biologia*, 1:261-272
- DÖBEREINER, J., BALDANI, V. L. D., BALDANI, J. I. (1995) Como Isolar e Identificar Bactérias Diazotróficas de Plantas Não-Leguminosas. Embrapa Agrobiologia, Seropédica. 66p.

- DORAN, J. W., ZEISS, M. R. (2000) Soil Health and Sustainability: Managing the Biotic Component of Soil Quality. *Applied Soil Ecology*, 15:3–11.
- DOSCIATTI, R. C. (2003) População Microbiana do Solo no Parque Barigui. Tese (Mestrado em Ciência do Solo) - Curitiba – PR, Universidade Federal do Paraná – UFPR, 77p.
- DUFRANC, G., DECHEN, S. C. F., FREITAS, S. S., CAMARGO, O. A. (2004) Atributos Físicos, Químicos e Biológicos Relacionados com a Estabilidade de Agregados de dois Latossolos em Plantio Direto no Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 28: 505-517.
- DUNN, I. S; BLATTNER, F. R. (1987) Charons 36 to 40: Multienzyme, High Capacity, Recombination Deficient Replacement Vectors with Polylinkers and Polystuffers. *Nucleic Acids Research*, 15: 2677–2698.
- EGAMBERDIEVA, D., KAMILOVA, F., VALIDOV, S., GAFUROVA, L., KUCHAROVA, Z., LUGTENBERG, B. (2008) High Incidence of Plant Growth-Stimulating Bacteria Associated with the Rhizosphere of Wheat Grown on Salinated Soil in Uzbekistan. *Environmental Microbiology*, 10:1–9.
- EMBRAPA (1997) Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análises de solo. 2. ed. Rio de Janeiro. 212p.
- ESTRADA-DE LOS SANTOS, P., BUSTILLOS-CRISTALES, R., CABALLERO-MELLADO, J. (2001) *Burkholderia*, a Genus Rich in Plant-associated Nitrogen Fixers with wide Environmental and Geographic Distribution. *Applied Environmental Microbiology*, n. 6, 67:2790–2798.
- FARINA, R. (2012) Diversidade de Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal Associadas à Cultura de Canola (*Brassica napus* L.) Cultivada no Município de Vacaria, Rio Grande do Sul. Tese (Doutorado em Ciências) – Porto Alegre – RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 104p.
- FASIM, H., AHMED, N., PARSONS, R., GADD, G. M. (2002) Solubilization of Zinc Salts by a Bacterium Isolated From the Air Environment of a Tannery. *FEMS Microbiology Letters*, 213:1-6.
- FERNANDES, M. S. (2006) Nutrição Mineral de Plantas. Viçosa, *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, 432p.
- FERREIRA, A. L. dos A., GUT, A. L., STEFANO, L. M. de. (2011) Padronização de Conduas em Terapia Intensiva. UNESP, Botucatu: Clínica Médica, 136 p.
- FRAGA, M. E.; BRAZ, D. M.; ROCHA, J. F.; PEREIRA, M. G.; FIGUEIREDO, D. V. (2012) Interação Microrganismo, Solo e Flora como Condutores da Diversidade na Mata Atlântica. *Acta Botanica Brasilica*, n.4, 26:857-865.
- GAMA-RODRIGUES, E. F. da, BARROS, N. F. de, GAMA-RODRIGUES, A. C. da, SANTOS, G. de A. (2005) Nitrogênio, Carbono e Atividade da Biomassa

Microbiana do Solo em Plantações de Eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29:893-901.

- GIBSON, J. M., CRUDEN, D. L., HADDOCK, J. D., ZYLSTRA, G. J., BRAND, J. M. (1993) Oxidation of polychlorinated biphenyls by *Pseudomonas* sp. strain LB400 and *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707. *Journal of Bacteriology*, n.14, 175:4561–4564.
- GLICKMANM, E.; DESSAUX, Y. (1995) *A Critical Examination of the Specificity of the Salkowski Reagent for Indolic Compounds Produced by Phytopathogenic Bacteria*. Applied and Environmental Microbiology, Washington, n. 2, 61:793-796.
- GOLDSTEIN, A, H. (1994) Involvement of the Quinoprotein Glucose Dehydrogenase in the Solubilization of Exogenous Phosphates by Gram-negative Bacteria. In: Torriani-Gorini A, Yagil E, Silver, S, editors. Phosphate in Microorganisms: Cellular and Molecular Biology. Washington, DC: ASM Press, p. 197–203.
- GOLLEY, F. B. Nutrient Cycling and Nutrient Conservation. In: GOLLEY, F. B. (1996) Tropical Rainforest Ecosystem: Structure and Function. 2. ed. Amsterdam: Elsevier Science B. V., p. 137-156.
- GONÇALVES, A. Z., DINIZ, S. (2008) Diversidade de Interações Micróbio-Planta e Processos ecossistêmicos. *Ecologia de Comunidades e Ecossistemas*, UNICAMP, 15p.
- GÖTZ, M., GOMES, N. C. M., DRATWINSKI, A., COSTA, R., BERG, G., PEIXOTO, R., MENDONÇA, A-HAGLER, L. & SMALLA, K. (2006) Survival of gfp-tagged Antagonistic Bacteria in the Rhizosphere of Tomato Plants and their Effects on the Indigenous Bacterial Community. *FEMS Microbiology Ecology*, 56:207–218.
- GRISI, B. M. (1988) Biomassa e Necessidades Energéticas das Populações Microbianas de Solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 1988, Campinas. A Responsabilidade Social da Ciência do Solo. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 353-364. 1988.
- GÜGI, B., ORANGE, N., HELLIO, F., BURINI, J. F., GUILLOU, C., LERICHE, F., GUESPIN-MICHEL, J. F. (1991) Effect of Growth Temperature on Several Exported Enzyme Activities in the Psychrotrophic Bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Bacteriology*, n. 12, 173:3814-3820.
- GUPTA, R., SINGAL, R., SHANKAR, A., KUHAD, R. V., SAXENA, R. K. (1994) A Modified Plate Assay for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. *Journal of General and Applied Microbiology*, 40:255–260.
- GUPTA, S. K., LAL, D., LAL, R. (2009) *Novosphingobium panipatense* sp. nov. and *Novosphingobium mathurensense* sp. nov., from Oil-contaminated Soil. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59:156-161.

- GUERRA, J. G. M., ALMEIDA, D. L., SANTOS, G. A., FERNANDES, M. S. (1996) Conteúdo de fósforo orgânico em amostras de solos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31:291-299.
- HARPER, J. E. Nitrogen metabolism. In: BOOTE, K.J., BENNETT. J.M., SINCLAIR, T.R., et al. (1994) *Physiology and determination of crop yield*. Madison : ASA/CSSA/SSSA,. Chapt.11A. p. 285-302.
- HARTMANN, W. M. (1983) *Localization of Sound in Rooms-The Effect of Visual Fixation*. 139-142.
- HOFFMANN, H., STINDL, S., STUMPF, A., MEHLEN, A., MONGET, D., HEESEMANN, J., SCHLEIFER, K. H., ROGGENKAMP, A. (2005) Description of *Enterobacter ludwigii* sp. nov., a Novel *Enterobacter* Species of Clinical Relevance. *Systematic and Applied Microbiology*, n. 3, 28: 206-12.
- HORMAECHE, E., EDWARDS, P. R. (1960) A Proposed Genus *Enterobacter*. *International Bulletin Bacteriological Nomenclature Taxonomy*, n. 2, 10:71-74.
- HUNGRIA, M., CAMPO, R. J., MENDES, I. C. (2007) A Importância do Processo de Fixação Biológica do Nitrogênio para a Cultura da Soja: Componente Essencial para a Competitividade do Produto Brasileiro. Londrina: EMBRAPA Soja, 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283). (ISSN 1516-781X; N 283).
- HUNTER-CEVERA, J. C. (1998) The Value of Microbial Diversity. *Current Opinion in Microbiology*, 1:278-285.
- INTORNE, A. C., OLIVEIRA, M. V. V. de, LIMA, M. L. L., SILVA, J. F. da, OLIVARES, F. L., FILHO, G. A. de S. (2009) Identification and Characterization of *Gluconacetobacter Diazotrophicus* Mutants Defective in the Solubilization of Phosphorus and Zinc. *Archives of Microbiology*, n. 5, 191:477- 483.
- JORDAN, C. F. (1985) *Nutrient Cycling in Tropical Forest Ecosystems*. New York: J. Wile, 190 p.
- JORDÃO, C. P., COSTA, E. D., BRUNE, W., GOULART, A. T. (1993) Adsorção de Cátions Metálicos em Ácidos Húmicos de Latossolo. *Química Nova*, n. 16, 6: 517-520.
- JÚNIOR, M. M.; MELO, W. J. (1999) Carbono, Carbono da Biomassa Microbiana e Atividade Enzimática em um Solo sob Mata Natural, Pastagem e Cultura do Algodoeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. Viçosa, n. 2, 23:257-263.
- JUNIOR, A. F. C., OLIVEIRA, L. A. de, OLIVEIRA, A. N. de. (2009) Produção de Ácido Indolacético por Rizóbios Isolados de Caupi. *Revista Ceres*, n. 6, 56:812-817.
- JUNIOR, A. F. C.; OLIVEIRA, L. A. de; OLIVEIRA, A. N. de; WILLERDING, A. L. (2010) Capacidade de Solubilização de Fosfatos e Eficiência Simbiótica de

- Rizóbios Isolados de Solos da Amazônia. *Acta Scientiarum Agronomy*, n. 2, 32:359-366.
- KANAZAWA, S.; FILIP, Z. (1986). Distribution of microorganisms, total biomass, and enzyme activities in different particles of brown soil. *Microbial Ecology*, 12:205–215.
- KANDASAMY, P., CHATURVEDI, N., SISODIA, B. S., SHASANY, A. K., GAHOI, S., MARLA, S. S., GOEL, R. (2013) Expression of CspE by a Psychrotrophic Bacterium *Enterobacter ludwigii* PAS1, Isolated from Indian Himalayan Soil and In silico Protein Modelling, Prediction of Conserved Residues and Active Sites. *Current Microbiology*, n. 5, 66: 507-14.
- KENNEDY, A. C. (1999) Bacterial Diversity in Agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, n. 1, 74:65-76.
- KHAN, M. S., ZAIDI, A., WANI, P. A. (2006) Role of Phosphate-Solubilizing Microorganisms in Sustainable Agriculture. *Agronomy for Sustainable Development*, 26:1-15.
- KLOEPPER, J. W., QUAD-HALLMANN, A., MAHAFFEE, W. F., HALLMANN, J. (1997). Recent Studies on the Microbial Ecology of Bacteria Endophytes in Plants. In: Congresso Brasileiro de Ciência do solo, 26. Rio de Janeiro, 1997. Resumos. Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, CD-ROM Klopper, 1997.
- KÖPPEN, W. (1948) Climatologia. Versão para o espanhol de Pedro R. Hendrichs Pérez. Fondo de Cultura Económica, México.
- KOZDRÓJ, J., Van ELSAS, J. D. (2001) Structural Diversity of Microorganisms in Chemically Perturbed Soil Assessed by Molecular and Cytochemical Approaches. *Journal of Microbiological Methods*, Amsterdam, n. 3, 43:197-212.
- KUMAR, S., KAUR, C., KIMURA, K., TAKEO, M., RAGHAVA, G. P. S., MAYILRAJ, S. (2013) Draft Genome Sequence of the Type Species of the Genus *Citrobacter*, *Citrobacter freundii* MTCC 1658. *Genome Announcements*, n.1, 1:1.
- KUSS, A. V. (2006) *Fixação de Nitrogênio por Bactérias Diazotróficas em Cultivares de Arroz Irrigado*. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Santa Maria – RS, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, 110p.
- LAL, S., TABACCHIONI, S. (2009) Ecology and Biotechnological Potential of *Paenibacillus Polymyxa*: a Minireview. *Indian Journal Microbiology*, 49:2-10.
- LAMBRECHT, M., OKON, Y., BROEK, A. V., VANDERLEYDEN, J. (2000) Indole-3-acetic acid: a Reciprocal Signalling Molecule in Bacteria–Plant Interactions. *Trends in Microbiology*, n. 7, 8: 298 – 300.

- LANGONI, H.; LAURINO, F.; FACCIOLI, P. Y.; SILVA, A. V. da, MENOZZI, B. D. (2009) Cultivo *Microbiológico e a Sensibilidade no Isolamento de Patógenos nas Mastites Bovinas. Veterinária e Zootecnia*, n. 4, 16:708-715.
- LI, L., LIU, H., SHI, Z., WANG, G. (2013) *Sphingobium cupriresistens* sp. nov., a Copper-Resistant Bacterium Isolated from Copper Mine Soil, and Emended Description of the genus *Sphingobium*. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63:604-609.
- LIMA, C. L. R., PAULETTO, E. A., GOMES, A. S., SILVA, J. B. (2003) Estabilidade de Agregados de um Planossolo Sob Diferentes Sistemas de Manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27:199- 205.
- LIPSKY, B. A., HOOK III, E. W., SMITH, A. A., PLORDE, J. J. (1980) *Citrobacter infections* in Humans: Experience at the Seattle Veterans Administration Medical Center and a Review of the Literature. *Clinical Infectious Diseases*, 2:746-760.
- LISBOA, B. B., VARGAS, L. K.; SILVEIRA, A. O. da, MARTINS, A. F., SELBACH, P. A. (2012) Indicadores Microbianos de Qualidade do Solo em Diferentes Sistemas de Manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36:45-55.
- LIU, Z., WANG, B., LIU, Y., LIU, S. (2005). *Novosphingobium taihuense* sp nov., a Novel Aromatic-Compound-Degrading Bacterium Isolated from Taihu Lake, China". *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55:1229-1232.
- LOPES, A. A. de C. (2012) *Interpretação de Indicadores Microbiológicos em Função da Matéria Orgânica do Solo e dos Rendimentos de Soja e Milho*. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Brasília – DF, Universidade de Brasília – UnB, 106P.
- LUM, M. R., HIRSCH, A. M. (2003) Rots and Their Symbiotic Microbes: Strategies to Obtain Nitrogen and Phosphorus in a Nutrient Limiting Environment. *Journal of Plant Growth Regulation*, 21:368-382.
- MACHADO, V., BERLITZ, D. L., MATSUMURA, A. T. S., SANTIN, R. de C. M., GUIMARÃES, A., SILVA, M. H. da, FIUZA, L. M. (2012) Bactérias como Agentes de Controle Biológico de Fitonematoídeos. *Oecologia Australis*, n. 2, 16:165-182.
- MADHAIYAN, M, POONGUZHALI, S., LEE, J., SARAVANAN, V. S., LEE, K., SANTHANAKRISHNAN, P. (2010) *Enterobacter arachidis* sp. nov., a Plant-Growth-Promoting Diazotrophic Bacterium Isolated from Rhizosphere Soil of Groundnut. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 7, 60: 1559-1564.
- McSPADDEN GARDENER, B. B. (2004) Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in Agricultural Systems. *Phytopathology*, 94:1252-1258.

- MANLAY, R. J., FELLER, C., SWIFT, M.J. (2006) Historical Evolution of Soil Organic Matter Concepts and their Relationships with the Fertility and Sustainability of Cropping Systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 119:217–233.
- MARCHIORO, L. E. T. (2005) *Produção de Ácido Indol Acético e Derivados por Bactérias Fixadoras de Nitrogênio*. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Curitiba – PR, Universidade Federal do Paraná – UFPR, 74 p.
- MARIN, V. A., BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. R. S., BALDANI, J. I. (1999) Fixação Biológica de Nitrogênio de Importância para a Agricultura Tropical. Seropédica, (Série Documentos. Embrapa Agrobiologia), 34p.
- MARTINS, C. R. F., FERREIRA, J. A. P. de S., SIQUEIRA, L. F. de G., FERREIRA, L. A. P., BAZZO, M. L., FRANCHINI, M., BERRO, O. J., VALLE, S. (2001) *Técnica de Coloração de Gram*. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS.
- MARSCHENER, H. (1993) Mineral Nutrition of Higher Plants. London, Academic Press Ltd., Harcourt Brace & Co. Publishers.
- MASSENSINI, A. M.; COSTA, M. D.; REIS, M. R.; SILVA, A. A. (2008) Atividade de Isolados Bacterianos Solubilizadores de Fosfato na Presença de Formulações Comerciais de Glyphosate. *Planta Daninha*. Viçosa, n.4, 26:815-823.
- MEHTA, S., NAUTIYAL, C. S. (2001) An Efficient Method for Qualitative Screening of Phosphate-Solubilizing Bacteria. *Current Microbiology*, n. 1, 43: 51–56.
- MICHEREFF, S. J., ANDRADE, D. E. G. T., MENEZES, M. (2005) *Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais*. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco: Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, 398p.
- MIFLIN, B.J., LEA, P.J. (1976) The Pathway of Nitrogen Assimilation in Plants. *Phytochemistry*, New York, 15: 873-885.
- MILANI, K. M. L., CEREZINI, P., BALOTA, E. L. (2009) Seleção de Microrganismos Diazotróficos. *Ynergismus Scyentifica*, n. 1, 4:1-3.
- MOREIRA, L. F. L. M., MOTA, F. O. B., CLEMENTE, C. A., AZEVEDO, B. M., BOMFIM, G. V. (2006) Adsorção de fósforo em solos do Estado do Ceará. *Revista Ciência Agronômica*, n. 1, 37:7-12.
- MOREIRA, F. M. S., SIQUEIRA, J. O. Ecologia do Solo. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. (Ed.). (2006) *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: Editora UFLA, p. 81-152.
- NAEEM, S., HAHN, D. R.; SCHUURMAN, G. (2000) Producer-Decomposer Co-dependency Influences Biodiversity Effects. *Nature* 403:762-764.

- NAHAS, E. (1991) Ciclo do fósforo: Transformações Microbianas. Jaboticabal-SP: FUNEP, 67p.
- NAHAS, E. (2002) Microrganismos do Solo Produtores de Fosfatases em Diferentes Sistemas Agrícolas. *Bragantia*, Campinas, n. 3, 61:267-275.
- NAM, Y., SEO, M., LIM, S., LEE, S. (2012) Genome Sequence of *Lysinibacillus boronitolerans* F1182, Isolated from a Traditional Korean Fermented Soybean Product. *Journal of Bacteriology*, n. 2, 194: 5988.
- NAUTIYAL, C. S. (1999) An Efficient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. *FEMS Microbiology Letters* 170: 265-270.
- NDAW, S. M., RACHID, C. T. da C., BENTO, M. A. de O., PEIXOTO, R. S., ROSADO, A. S., CANELLAS, L. P., OLIVARES, F. L. (2011) A Aplicação Combinada de Bactérias Diazotróficas e Ácidos Húmicos Modifica a Comunidade Bacteriana Rizosférica e a Associada às Raízes de Milho. IX Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas. Aracajú, SE.
- OGINSKY, E. L.; UMBREIT, W. W. (1959) An Introduction to Bacterial Physiology. 2nd ed. San Francisco. W. H. Freeman and Company. 443 p.
- OLIVARES, F. L.; REIS, V. M.; FAÇANHA, A. R.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; FERREIRA, F. P.; BATISTA, Q. R.; BARRETO, B. R.; SILVA, L. G da; AZEVEDO, I. G.; BRASIL, F. C.; ROSSIELO, R. O. P.; MIGUENS, F. C.; JAMES, E. K. (2001) The Role of Endophytic Diazotrops in Sugarcane Root Morphogenesis and Development.. In: 13th International Congress on Nitrogen Fixation, 2001, Hamilton, Ontario. Nitrogen Fixation - Global Perspectives - Abstract Book, 2001. 1:476-477.
- OSAKI, F. (2008) *Distribuição Espacial de Microrganismos e Fertilidade em Solos de Dois Ecossistemas Florestais: Floresta Ombrófila Mista e Povoamento Florestal com Pinus taeda L. em Tijucas do Sul- PR*. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Curitiba-PR, Universidade Federal do Paraná – UFPR, 281p.
- OURIVES, O. E. A.; SOUZA, G. M.; TIRITAN, C. S.; SANTOS, D. H. (2010) Fertilizante Orgânico como Fonte de Fósforo no Cultivo Inicial de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. Goiânia, n.2, 40:126-132.
- OUYANG, J., PEI, Z., LUTWICK, L., DALAL, S., YANG, L., CASSAI, N., SANDHU, K., HANNA, B., WIECZOREK, R. L., BLUTH, M., PINCUS, M. R. (2008) Case Report: *Paenibacillus thiaminolyticus*: a New Cause of Human Infection, Inducing Bacteremia in a Patient on Hemodialysis. *Annals of Clinical Laboratory Science*, n.4, 38:393-400.
- PAES, J. M. V., ANDREOLA, F., BRITO, C. H., LOURES, E. G. (1996) Decomposição da Palha de Café em três Tipos de Solo e sua Influência sobre a CTC e o pH. *Revista Ceres*, 43:674-683.

- PALLERONI, N. J. (2010) The Pseudomonas Story. *Environmental Microbiology*, 12:1377–1383.
- PARK, H. J., KIM, D. (2013). Draft Genome Sequence of a Humic Substance-Degrading *Paenibacillus* sp. Isolated from the Subarctic Grasslands at Low Temperature. *Genome Announcements*, n. 1,1:1.
- PARRON, L. M. (2004) *Aspectos da Ciclagem de Nutrientes em Função do Gradiente Topográfico, em uma Mata de Galeria no Distrito Federal*. Tese (Doutorado em Ecologia) – Brasília – DF, Universidade de Brasília – UnB, 203p.
- PATIL, C. D., PATIL, S. V., SALUNKE, B. K., SALUNKE, R. B. (2012). Insecticidal Potency of Bacterial Species *Bacillus thuringiensis* SV2 and *Serratia nematodiphila* SV6 Against Larvae of Mosquito Species *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi*, and *Culex quinquefasciatus*. *Parasitology Research*, n. 5, 110: 1841-1847.
- PATTEN, C. L., GLICK, B. R. (2002) Role of Pseudomonas Putida Indoleacetic Acid in Development of the Host Plant Root System. *Applied and Environmental Microbiology*, 68:3795–3801.
- PAU-ROBLOT, C., LEQUART-PILLON, M., APANGA, L., PILARD, S., COURTOIS, J., PAWLICKI-JULLIAN, N. (2013) Structural Features and Bioremediation Activity of an Exopolysaccharide Produced by a Strain of *Enterobacter ludwigii* Isolated in the Chernobyl Exclusion Zone. *Carbohydrate Polymers*, 93:154-162.
- PEÑA, M. L. P., MARQUES, R., JAHNEL, M. C., ANJOS, A. dos. (2005) Respiração Microbiana como Indicador da Qualidade do Solo em Ecossistema Florestal. *Floresta*, n. 1, 35:117-127.
- PEREIRA, A. R. B., FREITAS, D. A. F. de. (2012) Uso de Microorganismos para a Bioremediação de Ambientes Impactados. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, n. 6, 6:975-1006.
- PEREIRA, J. C., NEVES, M. C. P., DROZDOWICZ, A. (1996) Quantificações das Populações de Bactérias em Geral, de Bactérias Resistentes a Antibióticos e de Actinomicetos em Solos. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, 21p.
- PEREIRA, N. M. Z., ERNANI, P. R., SANGOI, L. (2007) Disponibilidade de Zinco para o Milho Afetada pela Adição de Zn e Pelo pH do Solo. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, n.3, 6:273-284.
- PÉREZ, E., SULBARÁN, M., BALL, M. M., YARZÁBAL, L. A., PÉREZ, E., SULBARÁN, M., BALL, M. M., YARZÁBAL, L. A. (2007) Isolation and Characterization of Mineral Phosphate-Solubilizing Bacteria Naturally Colonizing a Limonitic Crust in the South-Eastern Venezuelan Region. *Soil Biology & Biochemistry*, 39:2905–2914.

- PERIN, L. (2003) *Ecologia e Diversidade de Gluconacetobacter Diazotrophicus Associada à Cana-de-açúcar (Saccharum spp.)*. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, 63p.
- PILLON, C. N., João MIELNICZUK, J., MARTIN-NETO, L. (2002) Dinâmica da Matéria Orgânica no Ambiente. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 41p.
- PRAKASH, O., LAL, R. (2006) Description of *Sphingobium fuliginis* sp. nov., a Phenanthrene-Degrading Bacterium from a fly ash Dumping site, and Reclassification of *Sphingomonas cloacae* as *Sphingobium cloacae* comb. nov. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 9, 56: 2147-52.
- RABELO, G. R. (2007) *Efeitos do Corte Seletivo de Madeira sobre a Anatomia Foliar de Alseis pickelli Pilger et Shmale (Rubiaceae) em Mata de Tabuleiros, Rio de Janeiro, Brasil*. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia – Biologia Celular e Tecidual) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 41p.
- RADWAN, T. E. E., MOHAMED, Z. K., REIS, V. M. (2004) Efeito da Inoculação de Azospirillum e Herbaspirillum na Produção de Compostos Indólicos em Plântulas de Milho e Arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, n.10, 39:987-994.
- RADWAN, T. E. E., MOHANMED, Z. K., REIS, V. M. (2005) Aeração e Adição de Sais na Produção de Ácido Indol Acético por Bactérias Diazotróficas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40:997-1004.
- RANJARD, L., POLY, F., NAZARET, S. (2000) Monitoring Complex Bacterial Communities Using Culture-Independent Molecular Techniques: Application to Soil Environment. *Research in Microbiology*, n. 3, 51:167–177.
- REGINATTO, T. S. da C. (2008) Diversidade de Bactérias Associadas a Bromélias do Parque Estadual de Itapuã/RS. Tese (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Porto Alegre – RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 83p.
- REIS JUNIOR, F. B., SILVA, M. F., TEIXEIRA, K. R. S., URQUIAGA, S., REIS, V. M. (2004) Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* Associados a *Brachiaria* spp., em Diferentes Épocas e Condições de Cultivo e Produção de Fitormônio pela Bactéria. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 28:103-113.
- REYES, I., BAZIRAMAKENGA, R., BERNIER, L., ANTOUN, H. (2001) Solubilization of Phosphate Rocks and Minerals by a Wild-Type Strain and Two UV-Induced Mutants of *Penicillium rugulosum*. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 1741-1747.
- RIBEIRO, A. C., GUIMARÃES, P. T. G., ALVAREZ, V. H. (1999) Recomendação para uso de Corretivos e Fertilizantes em Minas Gerais (5ª aproximação). Viçosa (MG): Universidade Federal de Viçosa, 359 p.

- RIGOBELLO, E. C., NAHAS, E. (2004) Seasonal Fluctuations of Bacterial Population and Microbial Activity in Soils Cultivated With Eucalyptus and Pinus. *Scientia Agrícola Journal*. Piracicaba, n. 1. 61:88-93.
- RODRÍGUEZ, H., FRAGA, R. (1999) Phosphate Solubilizing Bacteria and their Role in Plant Growth Promotion. *Biotechnology Advance*, 17: 319–339.
- RODRÍGUEZ, H., FRAGA, R., GONZALEZ, T., BASHAN, Y. (2006) Genetics of Phosphate Solubilization and its Potential Applications for Improving Plant Growth-Promoting Bacteria. *Plant and Soil*, 287:15–21.
- SABINO, D. C. C. (2007) *Interação Planta-Bactéria Diazotrófica na Cultura do Arroz*. Tese (Doutorado em Ciências do Solo) – Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, 71p.
- SAITO, K. (1965) Studies on *Serratia marcescens*: Problems in the Classification of the Genus *Serratia*. *Nippon Saikingaku Zasshi*, 20: 59-66.
- SALTON, J. C. (2005) *Matéria Orgânica e Agregação do Solo na Rotação Lavoura-Pastagem em Ambiente Tropical*. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Porto Alegre – RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRS, 158p.
- SÁNCHEZ, M. M., FRITZE, D., BLANCO, A., SPRÖER, C., TINDALL, B. J., SCHUMANN, P., KROPPESTEDT, R. M., DIAZ, P., PASTOR, J. F. I. (2005) *Paenibacillus barcinonensis* sp. nov., a Xylanase-producing Bacterium Isolated from a Rice Field in the Ebro River Delta. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 2, 55:935-939.
- SARAVANAN, V. S.; OSBORNE, J.; MADHAIYAN, M.; MATHEW, L.; CHUNG, J.; AHN, K.; SA, T. (2007) Zinc Metal Solubilization by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and Induction of Pleomorphic Cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17:1477-1482.
- SARAVANAN, V. S.; SUBRAMONIAM, S. R.; RAJ, S. A. (2003) Assessing *in Vitro* Solubilization Potential of Different Zinc Solubilizing Bacterial (ZSB) Isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34:121-125.
- SARWAR, M.; KREMER, R. J. (1995) Enhanced Suppression of Plant Growth Through Production of L-tryptophan-derived Compounds by Deleterious Rhizobacteria. *Plant Soil*, 172:261-269.
- SCHLEIFER, K. H., KRAUS, J., DVORAK, C., KILPPER-BALZ, R., COLLINS, M. D., FISCHER, W. (1985) Transfer of *Streptococcus lactis* and Related Streptococci to the Genus *Lactococcus* gen. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 6:183–195.
- SCHLESINGER, W. H. (1997) *Biogeochemistry: an Analysis of Global Change*. California, Academic Press. 588p.

- SCHLOTER, M., DILLY, O., MUNCH, J.C. (2003) Indicators for Evaluating Soil Quality. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 98:255-262.
- SELLE, G. L. (2007) Ciclagem de nutrientes em ecossistemas florestais. *Bioscience Journal*. Uberlândia, n. 4, 23: 29-39.
- SESSISTSCH, A.; WEILHARTER, A.; GERZABEK, M. H.; KIRCHMANN, H.; KANDELER, E. (2001) Microbial Population Structures in Soil Particle Size Fractions of a Long-Term Fertilizer Field Experiment. *Applied and Environmental Microbiology*, n. 9, 67:4215-4224.
- SILVA, M. S. C. da; SILVA, E. M. R. da; PEREIRA, M. G.; SILVA, C. F. da. (2012) Estoque de Serrapilheira e Atividade Microbiana em Solo sob Sistemas Agroflorestais. *Floresta e Ambiente*, n. 4, 19:431-441.
- SILVA, A. C. S. da; JUNIOR, A. F. C.; OLIVEIRA, L. A. de; CHAGAS, L. F. B. (2011) Ocorrência de Bactérias Solubilizadoras de Fosfato nas Raízes de Plantas de Importância Econômica em Manaus e Rio Preto da Eva, Amazonas. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, n. 1, 2:37-42.
- SILVA, G. C., NASCIMENTO, M. T. (2001) Fitossociologia de um Remanescente de Mata sobre Tabuleiro no Norte do Estado do Rio de Janeiro (Mata do Carvão). *Revista Brasileira de Botânica*, 24:51-62.
- SILVA, I. R., MENDONÇA, E. S. Matéria orgânica do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (2007) Fertilidade do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.275-374.
- SILVA, J. E., RESCK, D. V. S. Matéria orgânica do solo. In: VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M. (1997) Biologia dos solos dos Cerrados. Planaltina, Embrapa, p.467-524.
- SIMPSON, F.B., BURRIS, R.H. (1984) A Nitrogen Pressure of 50 Atmospheres does not Prevent Evolution of Hydrogen by Nitrogenase. *Science*, 224:1095-1097.
- SONG, O., LEE, S., LEE, Y., LEE, S., KIM, K., CHOI, Y. (2008) Solubilization of Insoluble Inorganic Phosphate by Burkholderia Cepacia Da23 Isolated From Cultivated Soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39:151- 156.
- SOTTERO, N. A, FREITAS, S. dos S., MELO, A. M. T., TRANI, P. E. (2006) Rizobactéria e Alfaca: Colonização Rizosférica, Promoção de Crescimento e Controle Biológico. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 30:225-234.
- SOUCHIE, E. L., AZCÓN, R., BAREA, J. M., SAGGIN-JÚNIOR, O. J., SILVA, E. M. R. da. (2005) Solubilização de Fosfatos em Meios Sólido e Líquido por Bactérias e Fungos do Solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, n.11, 40:1149-1152.

- SPAEPEN, S., VANDERLEYDEN, J., REMANS, R. (2007) Indole-3-Acetic Acid in Microbial and Microorganism-Plant Signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, n. 4, 31:425–448.
- STEENHOUDT, O., VANDERLEYDEN, J. (2000) *Azospirillum, a Free-Living Nitrogen-Fixing Bacterium Closely Associated With Grasses: Genetics, Biochemical and Ecological aspects*. FEMS Microbiology Immunology, 24:487–506.
- STEVENSON, F. I. (1972) Organic Matter Reactions Involving Herbicides in Soil. *Journal of Environmental Quality*, 1:333-343.
- STEVENSON, F. J. (1994) *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. 2 ed. John Wiley & Sons, Nova Iorque.
- STIEVEN, A. C.; CAMPOS, D. T. da S.; MALHEIROS, C. H.; SILVA, M. B. R. C. da; FERREIRA, M. A. F.; OLIVEIRA, E. F. de; NETO, N. E. (2009) População e Biomassa Microbiana em Solo do Pantanal Matogrossense. *Revista Biodiversidade*, n.1, 8:22-30.
- STAMFORD, N. P.; MOURA, A. M. M. F.; SANTOS, K. S.; SANTOS, P. R. (2004) Atuação de *Acidithiobacillus* na Solubilização de Fosfato Natural em Solo de Tabuleiro Cultivado com Jacatupé (*pachyrhizus erosus*). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 28:75-83.
- STROSCHEIN, M. R. D. (2007) *Caracterização de Bactéria Fixadora de Nitrogênio em Lupinus Albescens*. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Santa Maria – RS, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, 83p.
- TAKEUCHI, M., HAMANA, K., HIRAISHI, A. (2001) Proposal of the Genus *Sphingomonas* Sensu Stricto and Three New Genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the Basis of Phylogenetic and Chemotaxonomic Analyses. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 4, 51:1405-1417.
- THAER, A. (1856) *The Principles of Practical Agriculture*. Translated from German by W. Shaw and C.W. Johnson. C.M. Saxton and Company. Agricultural Book Publisher, Berlin.
- THALLER, M. C., BERLUTTI, F., SCHIPPA, S., IORI, P., PASSARIELLO, C., ROSSOLINI, G. M. (1995) Heterogeneous Patterns of Acid Phosphatases Containing Low-Molecular-Mass Polypeptides in Members of the Family Enterobacteriaceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*, n. 2, 45: 255-261.
- TIESSEN, H., SHANG, C. (1998) Organic Matter Turnover in Tropical Land use Systems. In: Bergstrom L. and Kirchmann H. (eds), *Carbon and Nutrient Dynamics in Natural and Agricultural Tropical Ecosystems*. CAB International, Wallingford, p.1–14.

- TREVISAN, S., PIZZEGHELLO, D., RUPERTI, B., FRANCIOSO, O., SASSI, A., PALME, K., QUAGGIOTTI, S., NARDI, S. (2010) Humic Substances Induce Lateral Root Formation and Expression of the Early Auxin-Responsive IAA19 Gene and DR5 Synthetic Element in Arabidopsis. *Plant Biology*, 12: 604-614.
- VALENZUELA, S. V., DÍAZ, P., PASTOR, J. F. I. (2010) Recombinant Expression of an Alkali Stable GH10 xylanase from *Paenibacillus barcinonensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n. 8, 58: 4814-4818.
- VANDAMME, P., BERNARDET, J., SEGERS, P., KERSTERS, K. AND HOLMES, B. (1994) New Perspectives in the Classification of the Flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 4, 44:827–831.
- VAN HYLCKAMA Vlieg, J. ET., RADEMAKER, J. L. W., BACHMANN, H., MOLENAAR, D., KELLY, W. J., SIEZEN, R. J. (2006) Natural Diversity and Adaptive Responses of *Lactococcus lactis*. *Current Opinion in Biotechnology*, n. 2, 17:183–190.
- VANLAERE, E., LIPUMA, J. J., BALDWIN, A., HENRY, D., DE BRANDT, E., MAHENTHIRALINGAM, E., SPEERT, D., DOWSON, C., VANDAMME P. (2008) *Burkholderia latens* sp. nov., *Burkholderia diffusa* sp. nov., *Burkholderia arboris* sp. nov., *Burkholderia seminalis* sp. nov. and *Burkholderia metallica* sp. nov., Novel Species Within the *Burkholderia cepacia* Complex. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 7, 58:1580-1590.
- VARGAS, L. K., SCHOLLES, D. (2000) Biomassa Microbiana de C-CO₂ e N Mineral de um Podzólico Vermelho-Escuro Submetido a Diferentes Sistemas de Manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 24:35-42.
- VASSILEV, N., FRANCO, I., VASSILEVA, M., AZCON, R. (1996) Improved Plant Growth With Rock Phosphate Solubilized by *Aspergillus Niger* Grown on Sugar-Beet Waste. *Bioresource Technology*, 55: 237-241.
- VASSILEVA, M., AZCON, R., BAREA, J., VASSILEV, N. (1999) Effect of Encapsulated Cells of *Enterobacter* sp on Plant Growth and Phosphate Uptake. *Bioresource Technology*, 67, 229–232.
- VAZQUEZ, P., HOLGUIN, G., PUENTE, M. E., LOPEZ-CORTES, A., BASHAN, Y. (2000) Phosphate-Solubilizing Microorganisms Associated With the Rhizosphere of Mangroves in a Semiarid Coastal Lagoon. *Biology Fertility of Soils*, 30:460–468.
- VERMA, S. C., LADHA, J. K., TRIPATHI, A. K. (2001) Evaluation of Plant Growth Promoting and Colonization Ability of Endophytic Diazotrophs from Deep Water Rice. *Journal Biotechnology*, 91:127-141.

- VILLELA, D. M., NASCIMENTO, M. T., ARAGÃO, L. E. O. C., GAMA, D. M. (2006) Effect of Selective Logging on Forests Structure and Cycling in Seasonally dry Brazilian Forest. *Journal of Biogeography*, 33:506-516.
- VOGEL, H. L. M., SCHUMACHER, M. V., TRÜBY, P. (2012) Deposição de Serapilheira e Nutrientes por Espécies Nativas em uma Floresta Estacional Decidual em Itaara, RS, Brasil. *Floresta*, Curitiba, n. 1, 42:129 - 136.
- WANG, S., HSU, W., LIANG, T., YEN, Y., WANG, C. (2008) Purification and Characterization of three Novel Keratinolytic Metalloproteases Produced by *Chryseobacterium indologenes* TKU014 in a Shrimp Shell Powder Medium. *Bioresource Technology*, 99:5679–5686.
- WEISBURG, W. G., BARNS, S. M., PELLETIER, D. A., LANE, D. J. (1991) 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. *Journal of Bacteriology*, n. 2, 173:697–703.
- WERKMAN, C. H., GILLEN, G. F. (1932) Bacteria Producing Trimethylene Glycol. *Journal of Bacteriology*, n. 2, 23:167–182.
- WHITELAW, M. A., HARDEN, T. J., HELYAR, K. R. (1999) Phosphate Solubilisation in Solution Culture by the Soil Fungus *Penicillium Radicum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 31:655-665.
- XAVIER, R. P. (2006) *Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio na Produção Sustentável da Cultura de Cana-de-açúcar*. Tese (Doutorado em Ciências) – Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, 71p.
- YE, J., KOSTRZYNSKA, M., KARI, D., WARRINER, K. (2009). Evaluation of a Biocontrol Preparation Consisting of *Enterobacter asburiae* JX1 and a Lytic Bacteriophage Cocktail to Suppress the Growth of *Salmonella* Javiana Associated with Tomatoes. *Journal of Food Protection*, n. 11, 72:2284-2292.
- YOUSAF, S., AFZAL, M., REICHENAUER, T. G., BRADY, C. L., SESSITSCH, A. (2011) Hydrocarbon Degradation, Plant Colonization and Gene Expression of Alkane Degradation Genes by Endophytic *Enterobacter ludwigii* Strains. *Environmental Pollution*, 159:2675-2683.
- ZHANG, C.X., YANG, S.Y., XU, M.X., SUN, J., LIU, H., LIU, J. R., LIU, H., KAN, F., SUN, J., LAI, R., ZHANG, K. Y. (2009) *Serratia nematodiphila* sp. nov., Associated Symbiotically with the Entomopathogenic Nematode *Heterorhabditoides chongmingensis* (Rhabditida: Rhabditidae). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, n.7, 59:1603-1608.
- ZILLI, J. E., RUMJANEK, N. R., COUTINHO, H. L. DA C., NEVES, M. C. P. (2003) Diversidade Microbiana como Indicador de Qualidade do Solo. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, Brasília, n. 3, 20:391-411.
- ZIMMER, W., BOTHE, H. (1988) The Phytohormonal Interactions Between *Azospirillum* and Wheat. *Plant Soil*, 110:239-24.

APÊNDICES

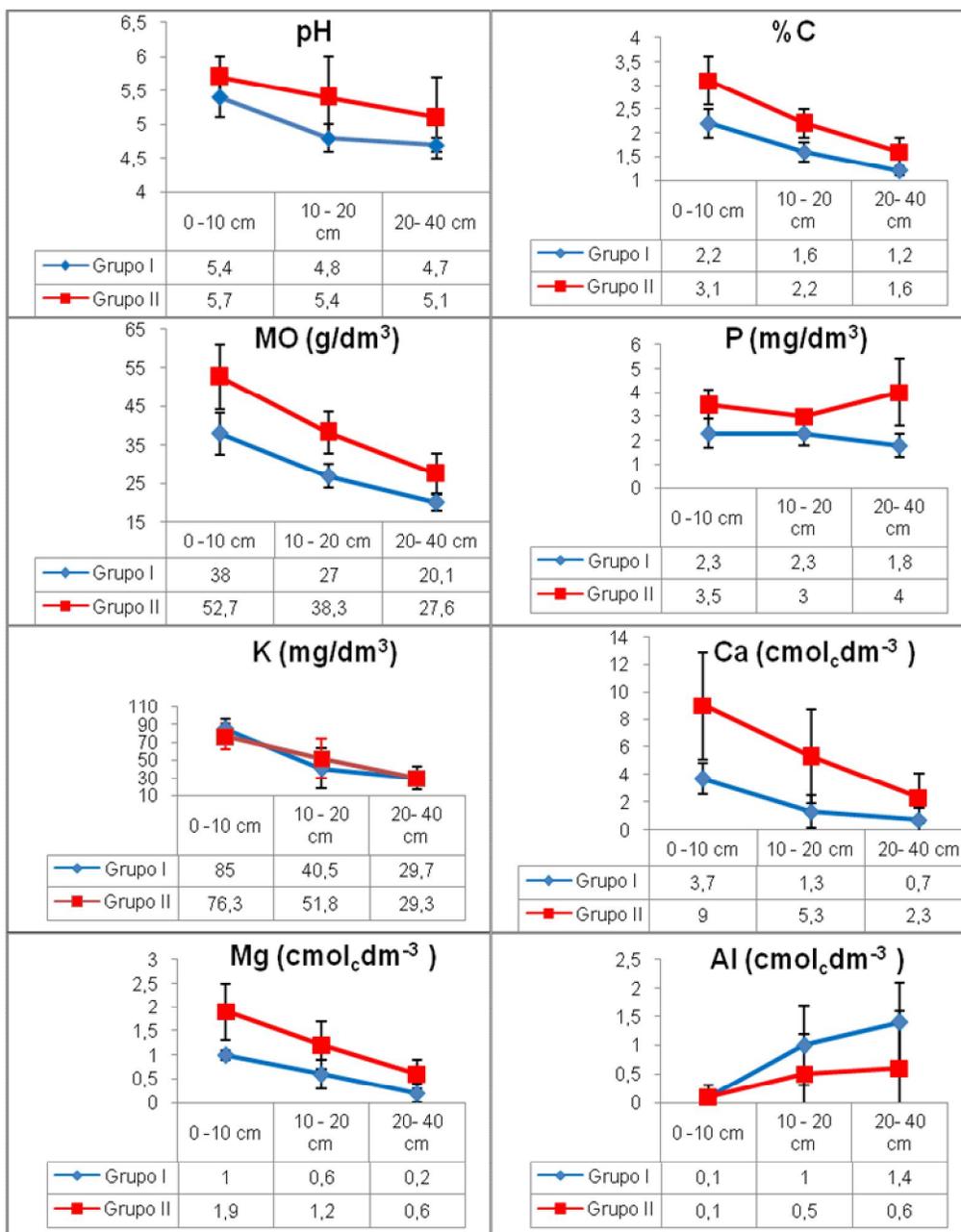


Figura 1 A: Variação nas características químicas em função da profundidade em amostras de solo (amostragem outubro/2011 e abril/2012), obtidas em quatro pontos de um setor preservado da Mata de Tabuleiro, em área de proteção permanente da Estação Ecológica de Guaxindiba. (dados apresentados como média e desvio padrão para n = 4).

Tabela 1 A: Análise química do Argissolo Amarelo do grupo I, coletado em setembro de 2011, em área de Mata Atlântica

Amostras	C	MO	pH	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	T	t	m	V	Fe ³⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Mn ²⁺	Na ¹⁺
	%	g/dm ³		-mg dm ⁻³ -		----- cmol _c dm ⁻³ -----				-- % --				-----mg/dm ³ -----				cmol _c dm ⁻³	
AM1 – P1	2,49	42,9	4,9	2	67	3,0	1,0	0,4	8,0	4,3	12,3	4,7	9	35	71,4	0,2	0,8	7,0	0,09
AM1 – P2	1,77	30,5	4,4	2	24	0,8	0,3	1,5	7,7	1,2	8,9	2,7	56	13	90,6	0,2	0,3	1,2	0,04
AM1 – P3	1,06	18,3	4,3	1	12	0,2	0,1	1,9	6,0	0,4	6,4	2,3	84	6	55,2	0,3	0,3	0,5	0,04
AM2 – P1	1,83	31,5	5,3	3	72	2,8	1,0	0,0	4,4	4,0	8,4	4,0	0	48	30,0	0,2	1,5	6,4	0,05
AM2 – P2	1,32	22,8	4,6	3	33	0,5	0,4	1,1	4,9	1,0	5,9	2,1	52	17	69,6	0,1	0,6	0,9	0,02
AM2 – P3	1,06	18,3	4,8	2	31	0,3	0,1	1,5	5,3	0,5	5,8	2,0	75	9	60,6	0,2	0,4	0,8	0,02
AM3 – P1	2,42	41,7	5,2	2	95	3,9	1,0	0,0	5,1	5,2	10,3	5,2	0	51	26,0	0,2	1,7	7,4	0,08
AM3 – P2	1,59	27,4	4,4	2	31	0,6	1,0	1,4	6,5	1,7	8,2	3,1	45	21	80,4	0,1	0,5	1,2	0,04
AM3 – P3	1,21	20,9	4,4	2	31	0,3	0,1	1,8	6,0	0,5	6,5	2,3	78	8	64,2	0,2	0,2	0,6	0,04
AM4 – P1	2,08	35,9	6,1	2	88	5,2	1,1	0,0	2,5	6,6	9,1	6,6	0	72	15,5	0,2	1,6	10,6	0,04
AM4 – P2	1,59	27,4	5,7	2	74	3,1	0,7	0,0	3,1	4,0	7,1	4,0	0	56	25,3	0,1	0,7	3,8	0,02
AM4 – P3	1,32	22,8	5,1	2	45	2,0	0,4	0,4	4,6	2,5	7,1	2,9	14	36	57,6	0,2	0,5	4,0	0,02

Conforme as recomendações Embrapa (1997): C = dicromatometria em meio ácido; P e K⁺ = extrator Carolina do Norte; Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ = extrator KCl 1mol L⁻¹ (Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ). Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico em água; P e K= fósforo e potássio disponível; Ca²⁺, Mg³⁺= cálcio e magnésio trocável; H+Al= acidez potencial; SB= soma de bases (K⁺, Ca²⁺, Mg³⁺); T= capacidade de troca de cátions= SB+(H+Al) ; t= capacidade efetiva de troca de cátions= SB+Al³⁺; m= saturação de Al³⁺ ; V= saturação por bases; Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, Na¹⁺ = ferro, cobre, zinco, manganês e sódio trocável. Onde: AM1, AM2, AM3 e AM4 representam amostras compostas representativas e, P1, P2 e P3 são as profundidades de coleta das amostras em 0-10 cm, 10-20 cm e 20-40 cm, respectivamente.

Tabela 2 A: Análise química do Argissolo Amarelo do grupo II, coletado em abril 2012, na área de Floresta Atlântica

Amostras	C	MO	pH	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	T	t	m	V	Fe ³⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Mn ²⁺	Na ¹⁺
	%	g/dm ³		-mg dm ⁻³ -		----- cmol _c dm ⁻³ -----						-- % --	-----mg/dm ³ -----				cmol _c dm ⁻³		
AM1 – P1	2,87	49,5	5,3	3	57	4,1	1,4	0,2	8,0	5,7	13,7	5,9	3	42	21,3	0,3	1,8	13,4	0,06
AM1 – P2	2,14	36,9	4,5	3	26	1,5	0,5	1,4	9,4	2,1	11,5	3,5	40	18	63,0	0,2	0,5	4,2	0,04
AM1 – P3	1,77	30,5	4,3	5	22	0,8	0,3	2,0	8,8	1,2	10,0	3,2	63	12	69,0	0,2	0,3	1,9	0,02
AM2 – P1	3,78	65,2	5,8	4	74	13,7	2,7	0,0	4,7	16,7	21,4	16,7	0	78	5,0	0,4	3,5	13,2	0,07
AM2 – P2	2,35	40,5	5,7	3	43	8,5	1,6	0,0	5,1	10,3	15,4	10,3	0	67	12,5	0,3	1,8	6,7	0,08
AM2 – P3	1,95	33,6	5,7	5	33	4,6	1,1	0,0	4,6	5,8	10,4	5,8	0	56	16,0	0,2	1,3	5,0	0,04
AM3 – P1	2,71	46,7	6,1	3	88	9,1	2,0	0,0	3,2	11,4	14,6	11,4	0	78	8,5	0,2	2,2	19,3	0,06
AM3 – P2	1,83	31,5	5,8	3	62	3,3	1,2	0,0	5,2	4,7	9,9	4,7	0	48	17,0	0,3	1,6	5,1	0,06
AM3 – P3	1,26	21,7	5,0	4	36	1,0	0,5	0,0	5,5	1,6	7,1	2,5	36	23	57,0	0,2	0,9	1,2	0,03
AM4 – P1	2,87	49,5	5,6	4	86	8,9	1,4	0,0	6,3	10,6	16,9	10,6	0	63	8,2	0,2	2,8	7,2	0,06
AM4 – P2	2,56	44,1	5,5	3	76	7,7	1,3	0,5	5,2	9,3	14,5	9,8	5	64	12,5	0,3	2,5	6,0	0,06
AM4 – P3	1,42	24,5	5,4	2	26	2,8	0,6	0,2	4,7	3,5	8,2	3,7	5	43	19,7	0,2	0,5	1,4	0,05

Conforme as recomendações Embrapa (1997): C = dicromatometria em meio ácido; P e K⁺ = extrator Carolina do Norte; Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ = extrator KCl 1mol L⁻¹ (Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ). Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico em água; P e K= fósforo e potássio disponível; Ca²⁺, Mg³⁺= cálcio e magnésio trocável; H+Al= acidez potencial; SB= soma de bases (K⁺, Ca²⁺, Mg³⁺); T= capacidade de troca de cátions= SB+(H+Al) ; t= capacidade efetiva de troca de cátions= SB+Al³⁺; m= saturação de Al³⁺ ; V= saturação por bases; Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, Na¹⁺ = ferro, cobre, zinco, manganês e sódio trocável. Onde: AM1, AM2, AM3 e AM4 representam amostras compostas representativas e, P1, P2 e P3 são as profundidades de coleta das amostras em 0-10 cm, 10-20 cm e 20-40 cm, respectivamente.

Tabela 3 A: Análise granulométrica do Argissolo Amarelo grupo I. Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes – RJ

Amostras	Areia	Silte	Argila
	----- g/Kg -----		
AM1 – P1	600	90	310
AM1 – P2	570	100	330
AM1 – P3	500	126	374
AM2 – P1	730	83	187
AM2 – P2	690	92	218
AM2 – P3	600	114	286
AM3 – P1	670	124	206
AM3 – P2	630	109	261
AM3 – P3	570	120	310
AM4 – P1	640	122	238
AM4 – P2	630	117	253
AM4 – P3	620	102	278

Tabela 4 A: Características morfológicas dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011(Grupo I), em área de Floresta Atlântica

Isolados	Morfologia da célula	Fonte	Coloração Gram
11 B	Bastões	P1	Gram-negativo
7 B	Bastões	S	Gram-negativo
5 B	Bastões	S	Gram-negativo
10 B	Bastões	S	Gram-negativo
13 B	Bastões	P1	Gram-negativo
12 B	Cocos	P1	Gram-negativo
6 B	Bastões	S	Gram-negativo
2 B	Bastões	S	Gram-negativo
1 B	Bastões	S	Gram-negativo
3 B	Cocos	S	Gram-negativo
8 B	Bastões	S	Gram-negativo
9 B	Bastões	S	Gram-negativo
4 B	Bastões	S	Gram-negativo
17 B	Bastões	P1	Gram-negativo
2 B.F	Bastões	S	Gram-positivo
27 B	Bastões	P2	Gram-negativo
14 B	Bastões	P1	Gram-negativo
29 B	Bastões	P2	Gram-negativo
3 F.F	Bastões	S	Gram-negativo
30 B	Bastões	P2	Gram-negativo
25 B	Bastões	P2	Gram-negativo
31 B	Bastões	P2	Gram-negativo
32 B	Bastões	P2	Gram-negativo
26 B	Bastões	P2	Gram-negativo
18 B	Bastões	P1	Gram-negativo
3 E.F	Bastões	S	Gram-positivo
20 B	Cocos	P1	Gram-negativo
22 A	Cocos	P2	Gram-negativo
21 A	Bastões	P2	Gram-negativo
16 B	Bastões	P1	Gram-negativo
3 P.F	Bastões	P1	Gram-negativo
19 B	Bastões	P1	Gram-negativo
22 B	Bastões	P2	Gram-negativo
3 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
24B	Bastões	P2	Gram-negativo
15B	Bastões	P1	Gram-negativo
1 B.F	Bastões	S	Gram-negativo
38B	Bastões	P3	Gram-negativo
37B	Bastões	P3	Gram-negativo
41B	Bastões	P3	Gram-positivo
2 G.F	Duplo cocos	S	Gram-negativo
36B	Duplo cocos	P3	Gram-positivo
33B	Cocos	P2	Gram-positivo
2 F.F	Cocos	S	Gram-positivo

Tabela 4 A, Cont.

43B	Bastões	P3	Gram-positivo
2 A.F	Bastões	S	Gram-positivo
42B	Cocos	P3	Gram-negativo
14 A	Bastões	P1	Gram-negativo
40B	Duplo cocos	P3	Gram-negativo
2 D.F	Cocos	S	Gram-negativo
2 E.F	Cocos	S	Gram-negativo
39 B	Bastões	P3	Gram-positivo
4 J.F	Cocos	S	Gram-negativo
4 H.F	Cocos	S	Gram-positivo
10 A	Bastões	P1	Gram-negativo
4 D.F	Cocos	S	Gram-positivo
4 R.F	Duplo cocos	S	Gram-negativo
4 V.F	Cocos	P3	Gram-negativo
7 C	Bastões	P1	Gram-negativo
4 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
6 C	Bastões	P1	Gram-negativo
19 A	Bastões	P2	Gram-negativo
29 A	Bastões	P2	Gram-negativo
4 T.F	Bastões	P1	Gram-positivo
17 A	Bastões	P1	Gram-negativo
5 D	Cocos	S	Gram-negativo
11 A	Bastões	P1	Gram-positivo
3 R.F	Bastões	P1	Gram-negativo
16 A	Cocos	P1	Gram-negativo
4 P.F	Bastões	S	Gram-negativo
28 A	Bastões	P2	Gram-negativo
7 D.B	Cocos	S	Gram-negativo
5 A	Cocos	S	Gram-negativo
3 Q.F	Bastões	P1	Gram-negativo
4 B.F	Bastões	S	Gram-negativo
4 N.F	Bastões	S	Gram-negativo
12 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
39 A	Bastões	P3	Gram-negativo
4 A	Cocos	S	Gram-negativo
8 C	Bastões	P1	Gram-negativo
23 A	Bastões	P2	Gram-positivo
4 I.F	Bastões	S	Gram-negativo
3 A	Bastões	S	Gram-negativo
9 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
16 D.B	Bastões	P2	Gram-negativo
4 G.F	Bastões	S	Gram-negativo
5 C.B	Bastões	S	Gram-negativo
45 A	Bastões	P3	Gram-negativo
3 M.F	Bastões	S	Gram-negativo
5 C	Cocos	S	Gram-negativo

Tabela 4 A, Cont.

11 C	Cocos	P2	Gram-negativo
33 A	Bastões	P3	Gram-negativo
6 C.B	Bastões	S	Gram-negativo
6 B.B	Bastões	P1	Gram-negativo
1 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
3 S.F	Bastões	P1	Gram-negativo
2 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
7 B.B	Bastões	P2	Gram-negativo
4 L.F	Bastões	S	Gram-negativo
36 A	Bastões	P3	Gram-negativo
4 F.F	Bastões	S	Gram-negativo
2 D	Bastões	S	Gram-negativo
38 A	Cocos	P3	Gram-negativo
4C	Bastões	S	Gram-negativo
13 A	Bastões	P1	Gram-negativo
1 C.B	Bastões	S	Gram-positivo
17 D.B	Bastões	P2	Gram-negativo
4 U.F	Bastões	P1	Gram-negativo
7 D	Bastões	P1	Gram-negativo
6 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
44 A	Bastões	P3	Gram-negativo
1 D	Cocos	S	Gram-negativo
3 G.F	Bastões	S	Gram-negativo
32 A	Bastões	P3	Gram-negativo
5 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
13 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
11 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
9 C	Cocos	P1	Gram-negativo
9 D	Cocos	P1	Gram-negativo
3 D	Cocos	S	Gram-negativo
18 A	Bastões	P1	Gram-positivo
14 D.B	Cocos	P2	Gram-negativo
10 D.B	Bastões	S	Gram-negativo
11 D	Bastões	P2	Gram-negativo
43 A	Bastões	P3	Gram-negativo
8 A	Cocos	P1	Gram-negativo
42 A	Bastões	P3	Gram-negativo
3 D.F	Bastões	S	Gram-negativo
4 Z.F	Cocos	P3	Gram-negativo
1 C	Bastões	S	Gram-negativo
4 D	Bastões	S	Gram-negativo
18 D.B	Bastões	P2	Gram-negativo
10 D	Bastões	P1	Gram-negativo
3 L.F	Bastões	S	Gram-positivo
3 J.F	Cocos	S	Gram-negativo
1 A	Bastões	S	Gram-negativo

Tabela 4 A, Cont.

3 O.F	Bastões	S	Gram-negativo
6 D	Bastões	S	Gram-negativo
20 D.B	Cocos	P2	Gram-negativo
37 A	Cocos	P3	Gram-negativo
4 X.F	Bastões	P3	Gram-negativo
8 D	Bastões	P1	Gram-negativo
12 A	Cocos	P1	Gram-positivo
34 A	Cocos	P3	Gram-positivo
2 H.F	Bastões	P3	Gram-negativo
15 D.B	Bastões	P2	Gram-negativo
9 A	Bastões	P1	Gram-negativo
2 C.B	Cocos	S	Gram-negativo
2 A	Bastões	S	Gram-negativo
8 D.B	Cocos	S	Gram-negativo
4 S.F	Cocos	S	Gram-negativo
27 A	Cocos	P2	Gram-negativo
24 A	Cocos	P2	Gram-negativo
5 B.B	Bastões	P1	Gram-negativo
30 A	Bastões	P3	Gram-negativo
6 A	Cocos	S	Gram-negativo
7 A	Bastões	P1	Gram-negativo
41 A	Bastões	P3	Gram-negativo
3 C.F	Bastões	P3	Gram-negativo
19 D.B	Bastões	P2	Gram-negativo
35 A	Bastões	P3	Gram-negativo
3 I.F	Bastões	S	Gram-negativo
7 C.B	Bastões	S	Gram-negativo
10 C	Bastões	P1	Gram-negativo
40 A	Bastões	P3	Gram-negativo
21 B	Bastões	P1	Gram-negativo
4 C.B	Bastões	S	Gram-negativo
4 B.B	Bastões	P1	Gram-negativo
31 A	Bastões	P3	Gram-negativo

Tabela 5 A: Características morfológicas dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de abril de 2012 (Grupo II), em área de Floresta Atlântica

Isolados	Morfologia da célula	Fonte	Coloração
2E	Cocos	P2	Gram-negativo
6E	Cocos	P2	Gram-negativo
4B	Cocos	S	Gram-negativo
5B	Bastões	P1	Gram-positivo
8E	Duplo cocos	S	Gram-negativo
7L	Bastões	P3	Gram-negativo
110	Cocos	S	Gram-negativo
11E	Bastões	S	Gram-positivo
12B	Bastões	P1	Gram-positivo
11H	Cocos	S	Gram-positivo
13B	Bastões	P2	Gram-negativo
9E	Cocos	P1	Gram-negativo
14E	Bastões	P3	Gram-negativo
14H	Cocos	P3	Gram-positivo
1L	Bastões	P1	Gram-negativo
3E	Bastões	P3	Gram-negativo
6H	Bastões	P2	Gram-negativo
8B	Cocos	S	Gram-positivo
3H	Bastões	P3	Gram-negativo
3B	Cocos	P3	Gram-positivo
4H	Bastões	S	Gram-negativo
12E	Cocos	P1	Gram-negativo
12H	Bastões	P1	Gram-positivo
8H.B	Cocos	S	Gram-negativo
7E.B	Bastões	S	Gram-positivo
5B.B	Bastões	P2	Gram-negativo
3H.B	Bastões	S	Gram-positivo
3E.B	Cocos	S	Gram-positivo
13H	Duplo cocos	P2	Gram-positivo
11B	Duplo cocos	S	Gram-negativo
10E	Cocos	P2	Gram-positivo
11L	Bastões	S	Gram-negativo
13E	Bastões	P2	Gram-negativo
12L	Bastões	P1	Gram-negativo
120	Bastões	P1	Gram-negativo
1B	Cocos	P1	Gram-negativo
10	Bastões	P1	Gram-negativo
5L	Bastões	P1	Gram-positivo
4E	Bastões	S	Gram-negativo
13L	Bastões	P2	Gram-negativo
14B	Bastões	P3	Gram-positivo
9B.B	Duplo cocos	P3	Gram-positivo
3B.B	Duplo cocos	S	Gram-negativo
5H	Cocos	P1	Gram-negativo

Tabela 5 A, Cont.

10B	Bastões	P2	Gram-negativo
6B	Bastões	P2	Gram-negativo
5E	Cocos	P1	Gram-negativo
1E	Cocos	P1	Gram-positivo
4L	Bastões	S	Gram-negativo
1H	Duplo cocos	P1	Gram-negativo
2H	Bastões	P2	Gram-negativo
14L	Bastões	P3	Gram-negativo
8L	Bastões	S	Gram-positivo
8H	Cocos	S	Gram-negativo
7H	Bastões	P3	Gram-positivo
8BB	Cocos	S	Gram-negativo
7BB	Bastões	S	Gram-negativo
8EB	Bastões	S	Gram-negativo
5O	Bastões	P1	Gram-positivo
7B	Bastões	P3	Gram-positivo
2BB	Bastões	P1	Gram-positivo
7E	Bastões	P3	Gram-positivo
3LB	Bastões	S	Gram-positivo

Tabela 6 A: Características das colônias dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de setembro de 2011 (Grupo I), em área de Floresta Atlântica

CARACTERIZAÇÃO DA COLÔNIA DAS BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS						
ISOLADO	COR	TAMANHO	FORMA	ELEVAÇÃO	BORDO	SUPERFÍCIE
22 B	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Denteada	Lisa
6 B.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
13 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
38 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
42 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
36 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
13 A	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Lisa
39 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
34 A	Bege	< 1mm	Circular	Umbilicada	Ondulada	Lisa
16 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
30 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
12 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
32 A	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Denteada	Lisa
27 A	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Denteada	Lisa
4 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
33 A	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Lisa
19 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
38 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
29 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
24 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
35 A	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Ondulada	Lisa
32 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
16 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
42 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
14 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
4 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
1 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
29 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
40 B	Bege	< 1mm	Circular	Umbilicada	Inteira	Lisa
41 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
39 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
31 A	Bege	< 1mm	Irregular	Umbilicada	Ondulada	Lisa
7 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
6 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
41 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
1 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
17 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
6 B	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Lisa
21 A	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Denteada	Lisa
25 B	Branca	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
43 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
24 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
7 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa

Tabela 6 A, Cont.

17 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
36 A	Bege	< 1mm	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
2 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
2 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
44 A	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Denteada	Lisa
28 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
30 B	Bege	< 1mm	Circular	Umbilicada	Denteada	Lisa
15 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
9 B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
21 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
43 B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
20 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
5 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
5 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
37 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
8 A	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
18 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Rugosa
18 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
33 B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
26 B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
10 A	Roxa	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
14 B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
8 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
45 A	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Rugosa
40 A	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Rugosa
9 A	Branco	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
15 D.B	Branco	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
4 C.B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
18 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 C	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Lisa
1 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
5 C.B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
6 D	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
14 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
5 D.B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
7 C	Transparente	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
11 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
7 C.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
16 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
5 D	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
6 C	Transparente	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
9 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
6 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
7 D.B	Amarelo	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
1 C	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa

Tabela 6 A, Cont.

1 C.B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
6 C.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
9 C	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
12 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 D	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
8 C	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
7 D	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 D	Transparente	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
2 D	Amarelo	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
11 C	Amarelo	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
9 D	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
8 D	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 D.B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
10 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
5 C	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Inteira	Lisa
10 D	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
2 C.B	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa
10 C	Amarelo	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
17 D.B	Branco	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
20 D.B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
13 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa
1 D	Amarelo	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
8 D.B	Branco	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
2 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
11 D	Bege	< 1mm	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
5 B.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
3 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
23 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
12 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
22 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
11 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
27 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Rugosa
19 D.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
19 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
37 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
31 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
10 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
7BB	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
11 A	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4BB	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 G.F	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Lisa
2 E.F	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa
4 B.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
4 P.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 J.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa

Tabela 6 A, Cont.

3 D.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
3 P.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
3 L.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 S.F	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Filamentosa	Lisa
4 T.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
2 G.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 F.F	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Inteira	Lisa
2 F.F	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Inteira	Lisa
3 Q.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 N.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
2 D.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 C.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
2 H.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
2 A.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
3 J.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
4 R.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
4 F.F	Bege	< 1mm	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
4 D.F	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Inteira	Lisa
4 H.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 U.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 O.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 V.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 I.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 L.F	Bege	< 1mm	Irregular	Umbonada	Ondulada	Lisa
4 G.F	Amarelo	< 1mm	Irregular	Plana	Denteada	Lisa
1 B.F	Branco	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 X.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 R.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4 Z.F	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 I.F	Bege	< 1mm	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
3 M.F	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3 E.F	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Rugosa
3 S.F	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa
2 B.F	Bege	Puntiforme	Circular	Convexa	Inteira	Lisa

Tabela 7 A: Características das colônias dos isolados bacterianos, obtidos na coleta de abril de 2012 (Grupo II), em área de Floresta Atlântica

ISOLADOS	COR	TAMANHO	FORMA	ELEVAÇÃO	BORDO	SUPERFÍCIE
2E	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
6E	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
5B	Amarelo	< 1mm	Irregular	Umbilicada	Ondulada	Lisa
8E	Branca	< 1mm	Circular	Convexa	Ondulada	Lisa
7L	Branca	< 1mm	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
11O	Branca	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
11E	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
12B	Branco	Puntiforme	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
11H	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Lisa
13B	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Lobada	Rugosa
9E	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Ondulada	Lisa
14E	Bege	< 1mm	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
14H	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Denteada	Lisa
2B.B	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
1L	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Filamentosa	Rugosa
3L.B	Amarelo	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3E	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
7B	Branco	< 1mm	Irregular	Plana	Filamentosa	Rugosa
6H	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa
8B	Transparente	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3H	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
3B	Bege	Puntiforme	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa
4H	Amarelo	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
12E	Vermelho	< 1mm	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa
12H	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
8H.B	Amarelo	< 1mm	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
8E.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
7 B.B	Amarelo	Puntiforme	Circular	Convexa	Inteira	Lisa
7E.B	Bege	< 1mm	Circular	Pulvinada	Inteira	Lisa
5B.B	Branca	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Lisa
3H.B	Bege	< 1mm	Circular	Pulvinada	Inteira	Lisa
3E.B	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Filamentosa	Rugosa
13H	Branca	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
11B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
7E	Bege	< 1mm	Circular	Umbilicada	Denteada	Rugosa
7H	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
10E	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
11L	Amarelo	< 1mm	Irregular	Plana	Ondulada	Lisa
13E	Branca	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
8B.B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Rugosa
12L	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa
12O	Bege	< 1mm	Circular	Umbonada	Inteira	Lisa

Tabela 7 A, Cont.

1B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
1O	Bege	Puntiforme	Circular	Plana	Inteira	Lisa
5L	Bege	< 1mm	Irregular	Umbilicada	Ondulada	Rugosa
4E	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
13L	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
14B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
9B.B	Branco	< 1mm	Irregular	Plana	Denteada	Lisa
3B.B	Amarelo	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
5H	Branco	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
10B	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
6B	Branco	< 1mm	Circular	Umbonada	Ondulada	Lisa
5E	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Denteada	Lisa
1 E	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
5O	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
4L	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Ondulada	Lisa
1H	Branco	< 1mm	Circular	Convexa	Ondulada	Lisa
2H	Bege	< 1mm	Circular	Pulvinada	Ondulada	Lisa
14L	Bege	< 1mm	Circular	Plana	Inteira	Lisa
8H	Bege	< 1mm	Irregular	Umbonada	Ondulada	Rugosa
8L	Bege	< 1mm	Irregular	Plana	Inteira	Rugosa

Tabela 8 A: Valores de índice de solubilização (IS) e classificação dos isolados bacterianos do grupo I, quanto à capacidade de solubilizar fosfato de Ca e óxido de zinco. (IS como média de três repetições) e Nd (não detectável)

Isolados Bacterianos	Origem	Valor IS (P)	Classificação IS	Valor IS (Zn)	Classificação IS
11 B	P1	3,17	Médio	1,02	Baixo
7 B	S	2,67	Médio	1,65	Baixo
5 B	S	2,25	Médio	2,69	Médio
10 B	S	3,00	Médio	1,71	Baixo
13 B	P1	3,92	Médio	1,90	Baixo
12 B	P1	3,50	Médio	1,63	Baixo
6 B	S	2,67	Médio	0,00	nd
2 B	S	3,00	Médio	2,25	Médio
1 B	S	2,46	Médio	1,50	Baixo
3 B	S	3,17	Médio	2,38	Médio
8 B	S	3,00	Médio	1,33	Baixo
9 B	S	3,00	Médio	1,13	Baixo
4 B	S	3,50	Médio	2,00	Médio
17 B	P1	2,03	Médio	1,54	Baixo
2 B.F	S	2,17	Médio	0,00	nd
27 B	P2	2,33	Médio	2,04	Médio
14 B	P1	0,00	nd	0,80	Baixo
29 B	P2	3,04	Médio	1,69	Baixo
3 F.F	S	2,17	Médio	0,00	nd
30 B	P2	3,17	Médio	1,66	Baixo
25 B	P2	4,00	Médio	1,21	Baixo
31 B	P2	3,04	Médio	1,36	Baixo
32 B	P2	4,00	Médio	2,00	Médio
26 B	P2	3,67	Médio	2,55	Médio
18 B	P1	2,21	Médio	2,95	Médio
3 E.F	S	0,00	nd	0,00	nd
20 B	P1	1,97	Baixo	3,33	Médio
22 A	P2	1,50	Baixo	4,63	Alto
21 A	P2	2,58	Médio	4,08	Alto
16 B	P1	2,17	Médio	1,85	Baixo
3 P.F	P1	2,83	Médio	0,00	nd
19 B	P1	2,13	Médio	2,88	Médio
22 B	P2	3,17	Médio	0,80	Baixo
3 D.B	S	3,50	Médio	0,00	nd
24B	P2	3,00	Médio	1,58	Baixo
15B	P1	3,00	Médio	1,83	Baixo
1 B.F	S	2,50	Médio	0,00	nd
38B	P3	2,54	Médio	3,13	Médio
37B	P3	2,20	Médio	5,17	Alto
41B	P3	4,17	Alto	2,65	Médio
2 G.F	S	1,54	Baixo	2,47	Médio
36B	P3	3,67	Médio	1,50	Baixo

Tabela 8 A, Cont.

33B	P2	3,00	Médio	1,50	Baixo
2 F.F	S	2,20	Médio	1,13	Baixo
43B	P3	4,00	Médio	3,63	Médio
2 A.F	S	0,86	Baixo	0,58	Baixo
42B	P3	3,83	Médio	3,13	Médio
14 A	P1	1,88	Baixo	3,75	Médio
40B	P3	3,00	Médio	3,83	Médio
2 D.F	S	1,92	Baixo	1,23	Baixo
2 E.F	S	2,02	Médio	1,22	Baixo
39 B	P3	3,00	Médio	3,50	Médio
4 J. F	S	2,69	Médio	0,00	nd
4 H. F	S	1,33	Baixo	0,00	nd
10 A	P1	4,90	Alto	3,40	Médio
4 D.F	S	1,13	Baixo	0,00	nd
4 R.F	S	4,33	Alto	0,00	nd
4 V.F	P3	1,60	Baixo	0,00	nd
7 C	P1	0,00	nd	0,00	nd
4 D.B	S	4,00	Médio	3,38	Médio
6 C	P1	0,00	nd	0,00	nd
19 A	P2	2,00	Médio	3,50	Médio
29 A	P2	1,50	Baixo	4,71	Alto
4 T.F	P1	2,83	Médio	0,00	nd
17 A	P1	1,75	Baixo	4,00	Médio
5 D	S	2,50	Médio	3,25	Médio
11 A	P1	1,50	Baixo	4,67	Alto
3 R.F	P1	2,00	Médio	0,00	nd
16 A	P1	2,04	Médio	3,13	Médio
4 P.F	S	2,50	Médio	0,00	nd
28 A	P2	1,50	Baixo	3,13	Médio
7 D.B	S	1,00	Baixo	0,00	nd
5 A	S	3,83	Médio	3,04	Médio
3 Q.F	P1	2,83	Médio	0,00	nd
4 B.F	S	2,17	Médio	0,00	nd
4 N.F	S	3,50	Médio	0,00	nd
12 D.B	S	2,50	Médio	3,50	Médio
39 A	P3	3,00	Médio	3,80	Médio
4 A	S	2,67	Médio	4,13	Alto
8 C	P1	1,69	Baixo	0,00	nd
23 A	P2	1,50	Baixo	4,08	Alto
4 I.F	S	3,13	Médio	3,13	Médio
3 A	S	2,50	Médio	3,17	Médio
9 D.B	S	3,00	Médio	2,75	Médio
16 D.B	P2	4,17	Alto	3,33	Médio
4 G.F	S	2,33	Médio	0,00	nd
5 C.B	S	3,08	Médio	3,63	Médio
45 A	P3	2,83	Médio	5,00	Alto

Tabela 8 A, Cont.

3 M.F	S	1,57	Baixo	0,00	nd
5 C	S	0,00	nd	0,00	nd
11 C	P2	4,67	Alto	0,00	nd
33 A	P3	2,04	Médio	2,44	Médio
6 C.B	S	2,63	Médio	3,13	Médio
6 B.B	P1	2,83	Médio	3,20	Médio
1 D.B	S	1,70	Baixo	2,97	Médio
3 S.F	P1	2,29	Médio	0,00	nd
2 D.B	S	4,58	Alto	3,42	Médio
7 B.B	P2	4,13	Alto	8,50	Alto
4 L.F	S	2,00	Médio	0,00	nd
36 A	P3	1,70	Baixo	2,80	Médio
4 F.F	S	1,31	Baixo	0,00	nd
2 D	S	0,00	nd	0,00	nd
38 A	P3	3,00	Médio	3,83	Médio
4C	S	0,00	nd	0,00	nd
13 A	P1	2,13	Médio	4,55	Alto
1 C.B	S	0,83	Baixo	0,00	nd
17 D.B	P2	0,00	nd	0,00	nd
4 U.F	P1	3,17	Médio	0,00	nd
7 D	P1	1,70	Baixo	0,00	nd
6 D.B	S	3,83	Médio	5,57	Alto
44 A	P3	2,75	Médio	4,13	Alto
1 D	S	0,00	nd	0,00	nd
3 G.F	S	3,25	Médio	0,00	nd
32 A	P3	2,20	Médio	3,33	Médio
5 D.B	S	2,08	Médio	5,00	Alto
13 D.B	S	2,42	Médio	3,75	Médio
11 D.B	S	3,50	Médio	4,61	Alto
9 C	P1	1,63	Baixo	1,75	Baixo
9 D	P1	1,73	Baixo	0,00	nd
3 D	S	0,00	nd	0,00	nd
18 A	P1	0,83	Baixo	0,00	nd
14 D.B	P2	2,17	Médio	2,92	Médio
10 D.B	S	7,67	Alto	2,80	Médio
11 D	P2	0,00	nd	0,00	nd
43 A	P3	3,50	Médio	3,38	Médio
8 A	P1	1,75	Baixo	3,35	Médio
42 A	P3	2,83	Médio	3,05	Médio
3 D.F	S	1,88	Baixo	0,00	nd
4 Z.F	P3	1,53	Baixo	0,00	nd
1 C	S	3,00	Médio	0,00	nd
4 D	S	1,33	Baixo	1,56	Baixo
18 D.B	P2	3,00	Médio	3,50	Médio
10 D	P1	1,44	Baixo	0,00	nd
3 L.F	S	1,88	Baixo	0,00	nd

Tabela 8 A, Cont.

3 J.F	S	1,45	Baixo	0,00	nd
1 A	S	1,75	Baixo	3,50	Médio
3 O.F	S	1,58	Baixo	3,00	Médio
6 D	S	0,00	nd	0,00	nd
20 D.B	P2	3,00	Médio	3,79	Médio
37 A	P3	3,17	Médio	4,67	Alto
4 X.F	P3	0,00	nd	0,00	nd
8 D	P1	1,38	Baixo	0,00	nd
12 A	P1	1,67	Baixo	4,33	Alto
34 A	P3	3,33	Médio	3,88	Médio
2 H.F	P3	1,33	Baixo	4,80	Alto
15 D.B	P2	0,00	nd	0,00	nd
9 A	P1	1,55	Baixo	1,17	Baixo
2 C.B	S	1,83	Baixo	3,38	Médio
2 A	S	2,67	Médio	3,58	Médio
8 D.B	S	2,92	Médio	4,25	Alto
4 S.F	S	2,90	Médio	0,00	nd
27 A	P2	2,50	Médio	3,97	Médio
24 A	P2	1,50	Baixo	4,25	Alto
5 B.B	P1	2,01	Médio	5,36	Alto
30 A	P3	1,75	Baixo	3,50	Médio
6 A	S	3,50	Médio	3,38	Médio
7 A	P1	2,00	Médio	3,83	Médio
41 A	P3	2,83	Médio	3,75	Médio
3 C.F	S	1,88	Baixo	0,00	nd
19 D.B	P2	3,17	Médio	2,63	Médio
35 A	P3	3,33	Médio	3,92	Médio
3 I.F	S	1,67	Baixo	0,00	nd
7 C.B	S	4,00	Médio	3,16	Médio
10 C	P1	0,00	nd	0,00	nd
40 A	P3	3,17	Médio	7,50	Alto
21 B	P2	2,31	Médio	3,95	Médio
4 C.B	S	4,00	Médio	4,00	Médio
4 BB	P1	1,94	Baixo	0,42	Baixo
31 A	P3	1,50	Baixo	3,58	Médio

Tabela 9 A: Valores de índice de solubilização (IS) e classificação dos isolados bacterianos do grupo II, quanto à capacidade de solubilizar fosfato de Ca e óxido de zinco. (IS como média de três repetições) e Nd (não detectável)

Isolados Bacterianos	Origem	Valor IS (P)	Classificação IS	Valor IS (Zn)	Classificação IS
7H	P3	2,08	Médio	1,88	Baixo
8 E.B	S	0,00	nd	2,80	Médio
3 L.B	S	0,00	nd	3,40	Médio
5 O	P1	0,00	nd	0,00	nd
6 E	P2	3,00	Médio	4,47	Alto
6 H	P2	0,00	nd	0,00	nd
8 B	S	1,40	Baixo	0,00	nd
7 L	P3	2,50	Médio	1,94	Baixo
10 E	P2	4,37	Alto	0,00	nd
11 B	S	3,15	Médio	0,00	nd
11 H	S	1,90	Baixo	0,00	nd
11 E	S	0,00	nd	0,00	nd
8 E	S	1,76	Baixo	1,17	Baixo
8 L	S	1,96	Baixo	2,86	Médio
9 E	P1	2,70	Médio	0,00	nd
10 B	P2	1,65	Baixo	0,00	nd
1 B	P1	3,80	Médio	7,63	Alto
1 E	P1	3,20	Médio	0,00	nd
1 H	P1	1,14	Baixo	0,00	nd
1 L	P1	1,43	Baixo	0,00	nd
12 H	P1	0,00	nd	0,00	nd
12 L	P1	0,00	nd	0,00	nd
13 B	P2	3,00	Médio	3,75	Médio
12 O	P1	2,42	Médio	0,00	nd
8 H.B	S	0,00	nd	0,00	nd
7 B.B	S	0	nd	1,3	Baixo
9 B.B	P3	1,20	Baixo	0,00	nd
4 E	S	2,50	Médio	0,00	nd
4 H	S	0,00	nd	0,00	nd
4 L	S	4,32	Alto	0,00	nd
5 B	P1	0,00	nd	0,00	nd
1 O	P1	0,00	nd	0,00	nd
8 H	S	0	nd	0,00	nd
2 E	P2	3,80	Médio	8,46	Alto
2 H	P2	1,18	Baixo	1,77	Baixo
14 E	P3	0,00	nd	1,24	Baixo
14 H	P3	4,88	Alto	6,00	Alto
3 B.B	S	0,00	nd	0,00	Nd
14 L	P3	1,65	Baixo	1,54	Baixo
3 E.B	S	1,58	Baixo	2,93	Médio
3 H.B	S	0,00	nd	0,00	nd
7 E.B	S	0,00	nd	0,00	nd

Tabela 9 A, Cont.

5 B.B	P2	0,00	nd	0,00	nd
11 L	S	0,00	nd	0,00	nd
11 O	S	2,01	Médio	1,37	Baixo
12 E	P1	1,72	Baixo	3,45	Médio
12 B	P1	0,00	nd	0,00	nd
13 E	P2	0,00	nd	4,50	Alto
13 H	P2	0,00	nd	2,63	Médio
14 B	P3	2,20	Médio	5,00	Alto
13 L	P2	3,50	Médio	0,00	nd
3 B	P3	1,94	Baixo	0,00	nd
3 E	P3	0,00	nd	0,00	nd
3 H	P3	3,25	Médio	0,00	nd
4 B	S	2,60	Médio	3,03	Médio
5 E	P1	1,60	Baixo	3,88	Médio
5 H	P1	1,75	Baixo	3,04	Médio
5 L	P1	0,00	nd	0,00	nd
6 B	P2	1,33	Baixo	2,33	Médio
2 B. B	P1	0	nd	0,00	nd
7 E	P3	0	nd	0,00	nd
8 B.B	S	0	nd	2,7	Médio
7B	P3	0	nd	0,00	nd

Tabela 10 A: Valores da produção de AIA em μM dos isolados bacterianos do grupo I e grupo II

ISOLADOS G.I	AIA s/trip	AIA c/trip	ISOLADOS G.II	AIA s/trip	AIA c/trip
CONTROLE	308,50 (6,4)	267,375 (4,07)			
7 D	44,167 (0,24)	28,333 (0,94)	12 E	349,333	396,833
8 C	36,833 (3,54)	47,167 (9,19)	12 H	320,833	170,833
21 B	128,125(4,42)	188,875 (0,53)	12 O	115,167	384,833
11B	144,875 (1,24)	252,250 (4,95)	9 E	122,500	73,167
12B	213,250 (1,06)	264,000 (7,07)	5H	571,250	531,750
13B	250,875 (3,71)	295,375 (5,13)	5L	108,750	151,500
16 B	236,250 (2,12)	229,250 (3,18)	1B	592,500	569,250
17 B	212,000 (7,42)	211,250 (0,35)	1E	138,500	109,250
19 B	159,000 (0,71)	148,875 (23,86)	1H	360,750	454,500
20 B	139,750 (1,06)	196,375 (14,67)	1L	521,750	543,000
4 B. B	155,375 (1,94)	84,250 (1,41)	1O	457,250	421,250
5 B.B	221,375 (3,71)	95,375 (0,88)	5E	458,250	516,750
18 B	137,625 (8,66)	72,125 (12,20)	2BB	83,250	202,000
10 D	100,500 (3,54)	133,167 (4,95)	5B	214,375	216,375
7 C	36,833 (3,06)	79,333 (13,20)	5O	268,375	234,625
8 D	343,167 (3,54)	348,500 (20,98)	12L	164,250	196,125
9 C	168,167 (5,42)	185,333 (1,89)	12B	192,000	275,250
9 D	355,000 (0,47)	391,667 (10,37)	5 B.B	115,000	154,167
3QF	194,500 (2,47)	250,750 (25,46)	10 E	181,667	171,500
4TF	567,250 (10,61)	525,750 (3,54)	13 B	227,000	338,500
4UF	547,000 (20,86)	498,250 (1,41)	13 E	203,667	290,500
3PF	571,000 (5,66)	477,250 (1,77)	13 H	211,167	302,333
3SF	520,500 (6,36)	546,250 (10,96)	13 L	53,500	48,000
10A	278,500 (41,37)	288,375 (0,88)	10 B	116,833	117,333
11A	220,625 (6,54)	259,875 (3,01)	6B	418,000	374,500
12A	352,500 (159,81)	235,125 (14,32)	6E	616,500	616,250
13A	210,875 (7,60)	216,375 (5,83)	6H	322,000	419,750
14A	223,750 (10,96)	236,500 (0,35)	2E	625,000	538,250
16A	256,625 (8,66)	254,625 (6,54)	2H	397,250	542,500
17A	250,500 (8,13)	218,750 (4,60)	9 B.B	76,333	130,500
18A	54,875 (2,65)	198,125 (3,36)	14 B	318,333	447,167
7A	237,750 (3,89)	227,500 (6,72)	14 E	295,500	229,833
8A	239,875 (13,26)	252,500 (1,06)	14 H	288,167	363,167
9A	61,875 (4,07)	199,000 (5,66)	7 H	299,167	251,167
3RF	273,750 (9,19)	285,250 (4,24)	7 L	197,167	212,000
6C	198,625 (7,25)	219,875 (17,50)	3B	511,500	342,750
6BB	240,750 (4,24)	241,375 (2,30)	3E	315,250	247,750
10C	106,250 (0,35)	218,500 (3,54)	7B	99,000 (-)	79,000
11 C	82,667 (3,77)	177,333 (0,47)	7E	153,500	151,750
15 D.B	27,500 (11,08)	49,500 (24,28)	3H	401,500	304,500
16 D.B	67,167 (4,95)	77,833 (0,24)	14L	311,250	219,750
17 D.B	23,833 (3,06)	12,833 (2,12)	3 E.B	290,167	313,667
18 D.B	101,833 (0,24)	165,167 (0,71)	7 E.B	242,667	261,833
20 D.B	164,667 (3,77)	124,333 (7,54)	8 H.B	244,167	358,500
22B	169,750 (2,12)	313,875 (13,97)	11 B	221,833	223,500
24 B	131,000 (11,31)	206,375 (1,94)	11 E	282,667	317,333
25 B	91,250 (1,06)	151,875 (1,59)	11 O	424,500	414,000

Tabela 10 A, Cont.

26 B	96,750 (4,24)	105,375 (4,77)	11 H	128,333 (1,89)	126,833 (4,95)
27 B	189,875 (2,65)	256,125 (11,14)	8 B	107,000 (3,77)	120,667 (0,47)
29 B	137,125 (1,24)	103,125 (3,36)	8 E	378,000 (3,30)	296,833 (4,95)
31 B	257,250 (46,67)	145,500 (3,89)	8 L	380,500 (1,18)	371,333 (8,49)
32 B	91,000 (3,89)	131,375 (39,07)	4B	228,500 (6,36)	160,500 (2,12)
33 B	175,500 (5,66)	115,625 (3,36)	4E	203,500 (2,83)	162,500 (3,54)
30 B	160,750 (3,18)	114,750 (2,12)	4L	383,250 (13,08)	271,500 (4,95)
7 B.B	258,125 (8,31)	251,250 (8,49)	3HB	100,625 (13,97)	225,875 (0,53)
11 D	96,500 (4,01)	91,333 (0,47)	3LB	199,000 (11,67)	225,250 (3,18)
14 D.B	167,500 (43,13)	167,167 (0,24)	7BB	143,875 (30,23)	235,250 (9,19)
19 D.B	199,833 (2,12)	288,167 (3,54)	8EB	168,000 (32,53)	216,875 (1,94)
19A	198,000 (4,95)	233,500 (0,71)	4H	167,625 (75,48)	209,000 (1,41)
21A	211,875 (5,83)	235,750 (0,71)	11L	190,375 (5,13)	221,750 (9,19)
22A	235,750 (13,44)	227,250 (8,13)	3BB	148,375 (2,65)	215,125 (5,13)
23A	244,500 (8,84)	173,500 (1,06)	8BB	113,625 (8,309)	294,500 (27,22)
24A	256,250 (2,12)	244,250 (4,24)	8H	197,750 (63,286)	68,375 (16,44)
27A	162,875 (9,02)	231,875 (3,36)			
28A	260,125 (6,54)	179,625 (3,36)			
29A	224,375 (6,89)	228,375 (0,53)			
36 B	134,625 (2,65)	191,500 (3,18)			
37 B	124,500 (3,18)	88,875 (2,65)			
38 B	136,250 (3,18)	114,000 (-)			
39 B	134,250 (0,35)	117,625 (1,94)			
40B	245,250 (5,66)	245,500 (7,07)			
41B	195,000 (4,60)	267,000 (8,13)			
42 B	111,625 (0,53)	136,375 (1,94)			
43B	226,500 (2,83)	222,500 (2,47)			
35 A	226,375 (17,85)	122,000 (0,35)			
42 A	215,000 (4,95)	209,625 (0,18)			
32A	95,250 (8,49)	250,625 (5,13)			
33 A	206,500 (3,54)	224,750 (3,89)			
34 A	227,875 (21,74)	191,875 (6,89)			
44 A	150,125 (9,02)	98,875 (4,42)			
45 A	161,250 (2,12)	85,500 (3,54)			
37 A	259,125 (6,54)	130,375 (4,07)			
38 A	229,000 (4,95)	140,125 (1,24)			
39 A	191,000 (1,77)	115,375 (3,71)			
40 A	207,125 (3,71)	197,500 (3,54)			
41 A	178,125 (1,94)	116,000 (1,77)			
43 A	242,000 (0,35)	151,625 (0,53)			
2HF	473,250 (21,21)	439,750 (4,24)			
3CF	525,000 (13,79)	517,500 (4,60)			
4XF	196,000 (8,13)	162,500 (2,47)			
4ZF	576,750 (3,18)	446,000 (31,11)			
4VF	80,375 (2,30)	281,000 (13,79)			
30A	232,750 (0,35)	218,000 (4,95)			
31A	247,750 (6,36)	356,000 (122,68)			
36A	174,500 (3,18)	241,000 (3,18)			
2 D	76,333 (3,30)	153,667 (2,36)			
3 D	22,000 (2,83)	13,167 (0,71)			
4C	175,500 (3,06)	147,167 (3,54)			
5 C	56,000 (5,19)	63,000 (0,47)			

Tabela 10 A, Cont.

5 D	166,500 (12,49)	214,500 (10,14)
6 D	15,333 (0,47)	12,833 (0,24)
1 D.B	156,167 (4,01)	136,333 (7,07)
10 D.B	123,000 (0,94)	278,000 (9,90)
2 C.B	160,167 (0,24)	237,333 (0,94)
3 D.B	58,167 (1,65)	178,833 (12,49)
8 D.B	270,333 (0,47)	390,500 (2,59)
1 B	190,875 (4,42)	143,500 (1,41)
10 B	218,500 (1,77)	133,625 (4,77)
2 B	259,125 (18,56)	202,875 (1,94)
5 B	192,750 (10,25)	88,500 (2,47)
9 B	196,625 (4,07)	131,500 (2,12)
6B	74,000 (2,47)	243,125 (24,93)
7B	250,500 (3,54)	306,000 (12,37)
8 B	223,375 (5,13)	207,125 (6,19)
1 C	290,833 (10,61)	191,167 (12,96)
4 D	266,333 (-)	181,667 (8,01)
11 D.B	169,667 (3,30)	163,333 (17,44)
13 D.B	197,500 (3,54)	273,000 (4,71)
2 D.B	290,167 (11,55)	317,167 (9,66)
4 C.B	147,833 (0,71)	76,667 (-)
5 C.B	284,667 (1,89)	307,667 (7,07)
6 D.B	221,833 (8,72)	99,667 (3,30)
7 D.B	286,167 (10,14)	270,833 (11,55)
9 D.B	283,667 (11,79)	183,500 (1,65)
6 C.B	89,500 (5,42)	97,833 (1,18)
12 D.B	280,500 (11,08)	376,000 (6,13)
7 C.B	278,167 (9,66)	148,667 (1,41)
2EF	613,000 (99,35)	499,500 (2,47)
2FF	568,000 (15,91)	424,750 (16,26)
3DF	563,500 (8,84)	552,500 (14,50)
3FF	538,000 (18,03)	527,500 (39,24)
3GF	603,750 (2,83)	496,750 (22,63)
3LF	560,500 (33,59)	475,500 (4,60)
3OF	416,250 (54,45)	170,250 (11,31)
4BF	249,250 (1,06)	285,000 (55,86)
4FF	106,375 (4,42)	116,000 (0,71)
4JF	688,000 (10,25)	603,250 (11,31)
4LF	555,250 (17,68)	475,750 (51,62)
4PF	557,000 (6,72)	602,250 (15,56)
4RF	167,000 (3,89)	191,250 (8,49)
4SF	607,500 (5,30)	571,750 (9,19)
1BF	342,250 (5,30)	295,250 (70,36)
3EF	425,500 (21,21)	474,000 (15,56)
3IF	425,750 (10,25)	393,500 (2,83)
3JF	179,625 (4,77)	270,875 (2,65)
4DF	145,500 (2,12)	135,250 (4,60)
4GF	175,250 (1,77)	68,500 (1,41)
4HF	488,000 (12,02)	322,500 (8,49)
4NF	631,500 (4,95)	478,500 (5,66)
1A	179,625 (0,53)	249,625 (6,89)
2A	216,500 (4,24)	229,500 (2,83)

Tabela 10 A, Cont.

3A	277,750 (29,70)	207,500 (7,78)
4A	253,500 (6,01)	240,750 (7,78)
5A	266,750 (1,77)	229,500 (2,83)
6A	239,625 (9,37)	226,500 (2,47)
2BF	225,625 (37,30)	262,625 (1,94)
2GF	187,125 (0,88)	175,250 (1,41)
3B	209,500 (7,78)	241,375 (8,66)
4B	202,250 (28,64)	245,125 (1,24)
1D	180,250 (1,77)	236,875 (9,02)
1CB	110,375 (4,42)	234,000 (12,02)
4DB	237,875 (0,53)	245,000 (4,95)
2AF	569,000 (33,59)	446,500 (5,30)
4IF	234,375 (1,24)	186,750 (3,18)
15B	193,375 (15,38)	199,000 (2,83)
14B	96,625 (23,51)	68,125 (24,93)
2DF	286,250 (2,83)	320,250 (2,47)
5DB	214,375 (6,54)	147,875 (12,90)
3MF	335,875 (18,21)	208,875 (13,26)
