



Bacillus subtilis as a vegetable growth promoter inoculant in soybean

Bacillus subtilis como inoculante promotor de crescimento vegetal em soja

CHAGAS JUNIOR Aloisio Freitas⁽¹⁾; BRAGA JUNIOR, Gaspar Moreira⁽²⁾; LIMA Celso Afonso⁽³⁾; MARTINS, Albert Lennon Lima⁽⁴⁾; SOUZA, Manuella Costa ⁽⁵⁾; CHAGAS, Lillian França Borges⁽⁶⁾

⁽¹⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7489-8701>; Universidade Federal do Tocantins, Docente do Curso de Agronomia e no Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal (PPGPV/UFT), Gurupi-TO, BRAZIL. E-mail: chagasjraf@uft.edu.br.

⁽²⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7299-5073>; Doutor em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins (PPGPV/UFT), Gurupi-TO, BRAZIL. E-mail: gasparjr_braga@uft.edu.br.

⁽³⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9684-0682>; Graduando em Agronomia pela Universidade Federal do Tocantins, Gurupi-TO, BRAZIL. E-mail: celsoalima@uft.edu.br.

⁽⁴⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2683-2035>; Doutor em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins (PPGPV/UFT), Gurupi-TO, BRAZIL. E-mail: eng.albertlennon@gmail.com.

⁽⁵⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4697-6178>; Mestre em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins/Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec/UFT), Gurupi-TO, BRAZIL. E-mail: manuella8_gpi@hotmail.com.

⁽⁶⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0083-6452>; Universidade Federal do Tocantins/Docente do Curso de Agronomia, Gurupi-TO, BRAZIL. E-mail: lillianfbc@uft.edu.br.

O conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos/as seus/as autores/as.

ABSTRACT

Thus, the objective of this study was to evaluate the efficiency of *Bacillus subtilis* as a soybean plant growth promoter inoculant. Seven isolates of *B. subtilis* (Bs01; Bs02; Bs03; Bs04; Bs05; Bs06 and Bs10) were evaluated for their ability to solubilize phosphate and synthesis of indole acetic acid, *in vitro*, and in the production of biomass of soybean plants in vegetation House. All isolates were able to solubilize phosphate and produce indole acetic acid (IAA). For the evaluated characteristic of shoot and root biomass, the treatment with inoculation of the Bs10 strain was superior ($p < 0.05$) to the others, in the first evaluation at 30 days after sowing (DAS) and at 52 DAS the treatments with the inoculations with strains Bs05, Bs06 and Bs10 were significantly higher ($p < 0.05$). The *B. subtilis* strains showed efficiency in the variables analyzed in relation to the control without inoculation. The efficiency of the use of *B. subtilis* in plant growth is related to the biological characteristics of this microorganism, which expresses facilities for maintaining its viability in bioformulates and, therefore, its potential to promote plant growth.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de *Bacillus subtilis* como inoculante promotor de crescimento vegetal de soja. Sete isolados de *B. subtilis* (Bs01; Bs02; Bs03; Bs04; Bs05; Bs06 e Bs10) foram avaliados quanto a capacidade de solubilização de fosfato e síntese de ácido indol acético, *in vitro*, e na produção de biomassa de plantas de soja em casa de vegetação. Todos os isolados foram capazes de solubilizar fosfato e produzir ácido indol acético (AIA). Para a característica avaliada de biomassa da parte aérea e radicular o tratamento com inoculação da estirpe Bs10 foi superior ($p < 0,05$) aos demais, na primeira avaliação aos 30 dias após a semeadura (DAS) e aos 52 DAS os tratamentos com as inoculações com as estirpes Bs05, Bs06 e Bs10 foram significativamente superior ($p < 0,05$). As estirpes de *B. subtilis* mostraram-se eficiência nas variáveis analisadas em relação a testemunha sem inoculação. A eficiência do uso de *B. subtilis* no crescimento de plantas está relacionado com as características biológicas deste microrganismo, que expressa facilidades para a manutenção de sua viabilidade em bioformulados e com isso a potencialidade para promover o crescimento vegetal.

INFORMAÇÕES DO ARTIGO

Histórico do Artigo:

Recebido: 04/11/2021

Aceito: 21/12/2021

Publicação: 01/01/2022



Keywords:

Phosphate solubilization,
Indole acetic acid, Biomass,
Glycine max L. Merrill

Palavras-Chave:

Solubilização de fosfato,
Ácido indol acético, Biomassa,
Glycine max L. Merrill

Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das mais importantes culturas na economia mundial. Sua importância na economia brasileira, deve-se ao fato de o Brasil ser o maior exportador do complexo grãos, farelo e óleo, e o segundo maior produtor mundial safra 2018/2019 (SOUZA; BITTENCOURT, 2020). A alta produtividade de culturas como a soja geralmente está associada com a utilização, entre outros fatores, de doses elevadas de fertilizantes. Estes por sua vez representam significativa parcela nos custos de produção da cultura, além de serem industrialmente obtidos de fontes não-renováveis, e potencialmente poluentes ambientais.

A utilização de micro-organismos promotores de crescimento de plantas para o aumento da produção agrícola será provavelmente uma das táticas mais importantes para a atualidade no mundo. Isso se deve à demanda emergente para a diminuição da dependência de fertilizantes químicos e a necessidade de desenvolvimento da agricultura sustentável (MACHADO et al., 2012). A produção de inoculantes de baixo custo com microrganismos promotores de crescimento de plantas é uma alternativa para diminuir os riscos ambientais causados pela utilização inadequada, e às vezes excessiva, de insumos e agrotóxicos. Os promotores de crescimento das plantas também contribuem para aumentar a produção agrícola, tornar o produto mais competitivo e diferenciado e, ainda, diminuir os custos para o produtor (BRAGA JUNIOR et al., 2018; DIAZ et al., 2019).

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) colonizam as raízes de plantas e induzem um aumento no crescimento vegetal. Entre os mecanismos pelo qual RPCP podem exercer efeitos benéficos nas plantas estão a absorção de nutrientes, principalmente o fósforo, através da solubilização de fosfatos, síntese de fitohormônios tal como o ácido indol acético (AIA), fixação assimbiótica do nitrogênio (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2016; ZEILINGER et al., 2016), assim como o controle dos efeitos deletérios de patógenos pela produção de substâncias inibitórias produzidas, excluindo-os das raízes pela concorrência ou por indução de resistência sistêmica (SARAVANAKUMAR et al., 2016).

As bactérias do gênero *Bacillus* podem ser consideradas RPCP, pois apresentam habilidade de colonizar a rizosfera e promover o crescimento vegetal (KUNDAN et al., 2015), são essenciais para a reciclagem de nutrientes e possuem potencial como biofertilizantes para incremento da produtividade, além de poder beneficiar a planta durante períodos de estresses (KAVAMURA et al., 2013; BRAGA JUNIOR et al., 2018; DIAZ et al., 2019).

Estudos realizados por Jain et al. (2016) mostraram que isolados de *Bacillus* podem incrementar, em soja, o peso fresco da parte aérea e da raiz, além de aumentar o número de

raízes laterais. Clemente et al. (2016) notou um expressivo aumento na produtividade em lavoura de cenoura após a aplicação de composto fermentado com linhagens selecionadas de *Bacillus* sp.

A utilização de espécies de *Bacillus* como promotoras de crescimento e agente de controle biológico para diversas culturas agrícolas proporciona um método atrativo, eficiente e ambientalmente menos agressivo que defensivos e fertilizantes químicos, o que torna a prática da utilização de bioagentes uma alternativa mais sustentável nos âmbitos econômicos e ambiental (SHAFI et al., 2017).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de sete isolados de *Bacillus subtilis* como inoculante para promoção de crescimento vegetal em soja.

Procedimentos Metodológicos

Local dos experimentos

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia e casa de vegetação da Universidade Federal do Tocantins - UFT, *Campus* Universitário de Gurupi, localizado na região sul do estado do Tocantins. As coordenadas geográficas da estação experimental correspondem a 11°43'45" S e 49°04'07" W. A caracterização climática local é de clima tropical úmido com classificação do tipo pequena deficiência hídrica (B1wA'a') / vegetação de cerrado ou Savana Tropical segundo Köppen- Geiger (PEEL et al., 2007).

Isolados de *B. subtilis*

Foram utilizados nos experimentos sete isolados de *Bacillus subtilis* (Bs01; Bs02; Bs03; Bs04; Bs05; Bs06 e Bs10). Esses isolados foram obtidos de solos de cerrado em áreas de cultivos no estado do Tocantins e classificados como *Bacillus subtilis* pelos testes morfológicos, estruturais e bioquímicos seguindo a metodologia do Manual de Bacteriologia Determinativa de Bergey (JAMES et al., 2005; SLEPECKY; HEMPHILL, 2006; RABINOVITCH; OLIVEIRA, 2015). Os isolados foram mantidos e preservados em refrigerador com repicagens periódicas em meio Luria-Bertani (LB).

Solubilização de fosfato

Para o ensaio de solubilização de fosfato *in vitro* os isolados de *B. subtilis* foram cultivados inicialmente em meio Luria-Bertani (LB) e levado para crescimento em estufa para cultura bacteriológica a 25 ± 2 °C, por três dias. A partir dessas culturas, foram retiradas estrias e colônias da bactéria e transferidos para frascos (250 ml), onde foram testados quanto ao potencial de solubilização de fosfato *in vitro* em meio LB, contendo os seguintes ingredientes (g

L⁻¹): Triptona, 10,0; Extrato de levedura, 5,0; NaCl, 5,0. Foram adicionados ao meio, 50 ml de K₂HPO₄ (10%) e 100 ml de CaCl₂ (10%), para formação de precipitado insolúvel de fosfato de cálcio (CaHPO₄) (HARA; OLIVERIA, 2004), e pH ajustado para 7,0.

A estimativa quantitativa de solubilização de fosfato foi realizada em triplicata em delineamento inteiramente ao acaso. A incubação foi realizada a 25 ± 2 °C em agitador orbital a 140 rpm durante seis dias. Foram feitas avaliações ao terceiro e sexto dia após a repicagem. Para a determinação da concentração de fósforo (P) solúvel utilizou-se o método colorimétrico de Murphy, Riley (1962), subtraindo-se o P solúvel contido nos tratamentos pelo contido na amostra controle (meio de cultura com fosfato e sem inóculo). Para as avaliações foram utilizados 1,0 ml do reagente, 0,5 ml da amostra filtrada e completado o volume final para 5 ml com água ultra pura (Biosystem) para cada amostra. Após 20 minutos de reação o P solúvel foi quantificado em espectrofotômetro (modelo Biospectro SP-22) no comprimento de onda de 725 nm de absorbância. A curva padrão para quantificação de P foi feita a partir do fosfato de potássio monobásico e as concentrações calculadas em µg ml⁻¹ (Nautyal, 1999). Determinou-se ainda a percentagem de solubilização, calculado em relação a testemunha (%Solub. = (quantidade de fosfato solubilizado com *B. subtilis* / quantidade de fosfato solubilizado sem inoculação de *B. subtilis*) x 100. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições.

Síntese de ácido indol acético (AIA)

Para o ensaio de quantificação de de AIA, *in vitro*, inicialmente os isolados foram previamente cultivados em placa de Petri em meio LB em estufa bacteriológica, por três dias a 25 ± 2 °C. Os isolados foram transferidos para frascos (250 ml) contendo 50 ml com meio de cultura líquido LB, na ausência e presença de L-triptofano. A concentração de L-triptofano utilizada foi de 100 mg L⁻¹ (GORDON; WEBER, 1951).

Após três e seis dias de crescimento sob agitador orbital a 140 rpm, a 25 ± 2 °C, a massa bacteriana foi separada por centrifugação a 12.000 rpm por 15 minutos. Para a análise colorimétrica de AIA foram utilizados uma parte (1 ml) do reagente de Salkowski [FeCl₃ 0,5 mol L⁻¹ + HClO₄ (35%)] e duas partes (2 ml) do sobrenadante obtido de cada isolado, e completado o volume final para 5 mL com água destilada. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em triplicata.

Após a comprovação qualitativa da presença de AIA (coloração rosa após 25 minutos de reação à temperatura de 28 °C no escuro), o fitohormônio foi quantificado em espectrofotômetro (modelo Biospectro SP-22) no comprimento de onda de 530 nm de absorbância. As concentrações, em µg mL⁻¹, foram calculadas a partir de uma curva padrão com

concentrações conhecidas da forma sintética do hormônio (0 a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$), cujas leituras foram a base para calcular a concentração de AIA nas amostras (referência). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em triplicata.

Ensaio em casa de vegetação

O solo utilizado foi obtido de área de cultivo da estação experimental da UFT campus de Gurupi, posteriormente realizado análise de química e física do solo de acordo com Embrapa (2011), apresentando as seguintes características: $\text{Ca}+\text{Mg}$ $1,68 \text{ cmol dm}^{-3}$; Ca $1,15 \text{ cmol dm}^{-3}$; Mg $0,73 \text{ cmol dm}^{-3}$; Al $0,24 \text{ cmol dm}^{-3}$; $\text{H}+\text{Al}$ $5,58 \text{ cmol dm}^{-3}$; K $0,05 \text{ cmol dm}^{-3}$; CTC (I) $7,51 \text{ cmol dm}^{-3}$; SB $2,17 \text{ cmol dm}^{-3}$; K $18,76 \text{ mg dm}^{-3}$ (ppm); P (Mel) $3,60 \text{ mg dm}^{-3}$ (PP); V $25,69\%$; M $11,07\%$; Mat. Org. $2,22\%$, $22,15 \text{ g dm}^{-3}$; pH CaCl_2 $4,76$, H_2O $5,34$. Textura: $57,35$, $9,77$ e $32,88\%$ de areia, silte e argila, respectivamente. O solo da área experimental foi classificado como latossolo vermelho amarelo distrófico de textura média (EMBRAPA, 2011).

Foram utilizados vasos de plástico com volume de $3,8 \text{ L}$, que foram preenchidos até a superfície com solo e posteriormente foi feita adubação de $0,7 \text{ g vaso}^{-1}$ do formulado 5-25-15. Uma hora antes do plantio foi feita inoculação de todas as sementes com *Bradyrhizobium japonicum* (estirpe SEMIA 5079 e SEMIA 5080) na recomendação de 200 ml para cada 50 kg de sementes, visando o suprimento de nitrogênio necessário para a cultura. Foram semeadas sete sementes por vaso da cultivar de soja M 8210 IPRO

Os isolados de *B. subtilis* foram inoculadas aplicando diretamente nas sementes no momento do plantio em uma quantidade de 200 ml para 50 kg de sementes, em uma suspensão bacteriana do meio LB líquido com três dias de crescimento apresentando concentração mínima de $1 \times 10^8 \text{ UFC ml}^{-1}$. A irrigação foi feita manualmente, fornecendo água para as plantas até a capacidade de campo do solo. Aos sete dias após o plantio foi realizado o desbaste deixando apenas duas plantas por vaso.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com oito tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram as sete estirpes de *B. subtilis* mais uma testemunha absoluta (sem inoculação de *B. subtilis*) e oito repetições, onde foram avaliados em duas épocas, sendo utilizadas quatro repetições para cada avaliação. As épocas de avaliações foram aos 30 dias após a semeadura (DAS), no estágio V3, e aos 52 DAS, no florescimento.

Foi determinada a altura de plantas, posteriormente separou-se o sistema radicular da parte aérea das plantas e as raízes e foram lavadas em água corrente para remoção do solo aderido. Os nódulos foram retirados das raízes e contados. Em seguida, o material foi colocado para secagem em estufa com aeração forçada a $75 \text{ }^\circ\text{C}$ até obtenção de massa constante. Em seguida o material foi pesado para obter a massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz

(MSR), massa seca total (MST), bem como a massa seca dos nódulos (MSN). Com os dados de MSPA, MSR e MST determinou-se a eficiência relativa de cada tratamento, calculada segundo a fórmula: $ER = (MS \text{ inoculada com } B. \textit{subtilis} / MS \text{ sem inoculação de } B. \textit{subtilis}) \times 100$ (Bergensen et al. 1971).

Os dados foram submetidos à análise de variância com teste F, e as médias dos tratamentos agrupados pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2019).

Resultados e Discussão

Solubilização de fosfato

Na primeira avaliação ao terceiro dia de crescimento, a concentração de fosfato variou de 0,3 a 4,8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ entre os isolados de *B. subtilis*. Os isolados Bs01, Bs02 e Bs04 apresentaram concentrações de fosfato superiores aos demais isolados e a testemunha ($p < 0,05$), com destaque para o isolado Bs02 que se mostrou superior aos demais isolados ($p < 0,05$). A percentagem de solubilização dos isolados variou de 50 a 2300% a mais em relação à testemunha (tabela 1).

Ao sexto dia de crescimento a concentração de fosfato solubilizado variou de 0,9 a 14,4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ nos filtrados, onde os isolados Bs01, Bs02, Bs05 e Bs06 foram superiores a testemunha ($p < 0,05$), com o isolado Bs05 sendo superior aos demais isolados. A percentagem de solubilização dos isolados variou de 350 a 7100% em relação à testemunha (tabela 1). A concentração de fosfato solubilizado aumentou, na maioria dos isolados, do terceiro ao sexto dia de crescimento. Cinco dos sete isolados testados no presente experimento reduziram o valor do pH em relação ao pH inicial do meio, variando entre 6,9 a 5,2 após seis dias de crescimento. Todos os isolados de *B. subtilis* estudados apresentaram potencial de solubilização de fosfato, sendo os isolados Bs01, Bs02, Bs05 e Bs06 os maiores solubilizadores de fosfato (tabela 1).

Os mecanismos e formas pelos quais as rizobactérias realizam a solubilização de fosfatos são pela secreção e produção de ácidos orgânicos, tais como, ácidos mono, di, e tri-carboxílicos, onde esses ácidos são de um grupo que atuam na quelatação dos cátions (Al, Fe e Ca), ácido glucônico, keto-glucônico, cetoglucônico, ácido láctico, ácido acético e também pela ação da glucose desidrogenase. Outras enzimas que atuam na solubilização de fósforo, que também pode ser chamada de mineralização, são as fosfatases (ZHONG et al., 2014; CHAUHAN et al., 2017). Assim, as rizobactérias são capazes de solubilizar o fósforo pela acidificação, quelatação ou por meio de processos enzimáticos (PÉREZ-MONTAÑO et al., 2014; MENDES et al., 2014). Sugere-se que a solubilização de fosfato pelos isolados de *B. subtilis* em meio LB, no presente estudo (tabela 1) se deve a esses mecanismos de ação.

Tabela 1. Médias de concentração de fosfato solubilizado em meio LB por isolados de *Bacillus subtilis*.¹

Tratamentos	3º dia de crescimento		6º dia de crescimento		pH
	($\mu\text{g mL}^{-1}$) ¹	% Solub. ³	($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% Solub.	
Bs01	2,7 b	1350	9,4 b	4700	7,0
Bs02	4,8 a	2400	4,5 c	2250	5,2
Bs03	0,5 d	250	0,9 d	450	6,5
Bs04	1,0 c	500	1,2 d	600	6,2
Bs05	0,4 d	200	14,4 a	7200	6,2
Bs06	0,3 d	150	2,8 c	1400	6,9
Bs10	0,5 d	250	1,6 d	800	7,0
Testemunha	0,2 d	100	0,2 d	100	8,0
CV (%) ²	16,1	-	24,6	-	-

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% significância. ² Coeficiente de Variação. ³ Percentual de solubilização de fosfato em relação a testemunha sem inoculação de *Bacillus subtilis*.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2021.

Observa-se que o isolado Bs01 foi capaz de solubilizar fosfato e manteve seu pH em 7,0 indicando que a acidificação dos meios de cultura não é necessariamente um indicador eficaz de solubilização de fosfato. Segundo Stamford, Nahas (2010) mesmo com a capacidade de solubilização de fosfato esteja relacionada com a produção de ácidos e diminuição de pH, nem sempre esses fatores se correlacionam com a quantidade de fosfato solúvel produzida.

Ahmad et al. (2018) verificam em seu trabalho a capacidade do isolado Q3, identificado como *B. subtilis*, em solubilizar fosfato em meio líquido, como observado nos resultados encontrados neste estudo. Outros autores verificaram também a capacidade de solubilização de fosfato por *B. subtilis in vitro* em meio de cultura líquido e sólido como relatado por Abhijith et al. (2017), Milani (2017), Abreu et al. (2017) e Mohamed et al. (2018).

Ácido indol acético (AIA)

Todos os isolados de *B. subtilis* utilizados foram capazes de produzir quantidades de AIA em meio de cultura líquido LB suplementado ou não com L-triptofano (tabela 2). A maioria dos isolados (Bs2, Bs4, Bs5, Bs6 e Bs10) proporcionaram maior produção de AIA na presença do aminoácido indutor triptofano. Na primeira avaliação ao terceiro dia de incubação na ausência do indutor em meio LB a produção de AIA entre os isolados variou entre 0,19 a 1,20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com destaque para o isolado Bs06 que foi superior ($p < 0,05$) aos demais isolados e a testemunha (tabela 2).

Já na presença do aminoácido os isolados foram capazes de sintetizar uma quantidade de AIA que variou em 0,25 a 1,95 $\mu\text{g mL}^{-1}$, os isolados apresentaram, em média, produção de AIA com variação de 150 a 1850% superiores em relação à testemunha. Os isolados Bs06 e Bs10 foram capazes de produzir maior quantidade de AIA na presença de triptofano, sendo superiores aos demais isolados e a testemunha ($p < 0,05$) (tabela 2).

Tabela 2. Produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$) por isolados de *Bacillus subtilis* em meio LB na ausência (A T) e presença (P T) de L-triptofano.¹

Tratamentos	3º dia de crescimento			6º dia de crescimento		
	A T	P T	% AIA ³	A T	P T	% AIA
Bs 01	0,30 cA	0,25 cA	250	0,34 cA	0,35 cA	350
Bs 02	0,55 bB	1,16 bA	1160	0,95 bB	1,60 bA	1600
Bs 03	0,55 bA	0,38 cA	380	0,55 cA	0,55 cA	550
Bs 04	0,19 cA	0,59 cA	590	0,35 cA	0,71 cA	710
Bs 05	0,28 cA	0,77 cA	770	0,51 cA	0,93 cA	930
Bs 06	1,20 aB	1,95 aA	1950	1,35 aB	2,46 aA	2460
Bs 10	0,32 cB	1,91 aA	1910	0,50 cB	2,25 aA	2250
Testemunha	0,10 dA	0,10 dA	100	0,10 dA	0,10 dA	100
CV (%) ²	18,7	24,2	-	24,2	23,1	-

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. ² Coeficiente de Variação. ³ Percentual de produção de AIA dos isolados cultivados em meio de cultura na presença de L-Triptofano em relação a testemunha sem inoculação de *Bacillus subtilis*.
Fonte: Dados da Pesquisa, 2021.

Na quantificação ao sexto dia de crescimento pode-se observar que houve aumento na produção de AIA pela maioria dos isolados comparados com a primeira avaliação. Na ausência do precursor L-Triptofano as concentrações de AIA produzidas pelos isolados ficaram entre 0,34 a 1,35 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Já na presença de triptofano a produção de AIA variou de 0,35 a 2,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$, superiores 250 a 2360% a testemunha na ausência de triptofano, sendo o isolado Bs01 que obteve a menor produção de AIA, e os isolados Bs06 e Bs10 os que foram capazes de produzir AIA na maior quantidade na presença de triptofano, sendo superior aos demais isolados e a testemunha ($p < 0,05$) (tabela 2).

Cerqueira et al. (2015) avaliaram a capacidade de isolados de *Bacillus* em produzir AIA, onde todos os isolados se mostraram produtores de AIA na presença de triptofano encontrando concentrações de até 1,60 $\mu\text{g mL}^{-1}$, valor inferior ao encontrado no presente estudo, que foi de até 2,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (tabela 2). A biossíntese do AIA por bactérias acontece por diferentes rotas metabólicas, sendo o aminoácido triptofano o principal precursor para a síntese de AIA (TAIZ et al., 2017). Porém também existem vias independentes do triptofano, o que explica os isolados de *B. subtilis* produzirem AIA na ausência de triptofano no presente estudo.

A síntese de compostos indólicos em bactérias depende da presença de precursores nos exsudatos radiculares. Entre os vários exsudatos, L-triptofano foi identificado como o principal

precursor para a rota de biossíntese de compostos indólicos em bactérias (SOUZA et al., 2015). A caracterização de compostos intermediários levou à identificação de diferentes vias que usam L-triptofano como o precursor principal. As diferentes vias de síntese de AIA em bactérias mostram um alto grau de semelhança com as vias de biossíntese de AIA em plantas (SPAEPEN et al., 2007). Bactérias benéficas sintetizam predominantemente IAA através da via do ácido indol-3-pirúvico, uma via alternativa dependente do L-triptofano. Em bactérias fitopatogênicas, o IAA é produzido a partir do L-triptofano pela via indol-acetoamida. Em *A. brasilense*, pelo menos três vias de biossíntese foram descritas para a produção de IAA: dois dependentes de L-triptofano (ácido indol-3-pirúvico e vias indol-acetoamida) e um L-triptofano independente (PRINSEN et al., 1993), como a via ácida indol-3-pirúvico como a mais importante entre elas (SPAEPEN et al., 2008).

Araújo e Guerreiro (2010), avaliando a promoção de crescimento de *Bacillus* no milho, observaram a produção de AIA variando de 0,75 a 21,35 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Muitos estudos evidenciam a capacidade de produção de AIA por *B. subtilis in vitro* (BOTELHO; LEONCIO; 2017; KUMARI et al., 2018; RIBEIRO et al., 2018). Siciua et al. (2016), relataram em seu trabalho que *B. subtilis* foi capaz de produzir AIA e aumentar a porcentagem de germinação e vigor de plântulas de tomateiro, e por Reetha et al. (2014) em plantas de cebola.

Ensaio casa de vegetação

Para a massa seca da parte aérea (MSPA) aos 30 DAS o tratamento com inoculação do isolado Bs10 foi superior aos demais ($p < 0,05$) (tabela 3). Aos 52 DAS os tratamentos com as inoculações com as estirpes Bs05 e Bs10 foram significativamente superiores ($p < 0,05$). Para a massa seca da raiz (MSR) aos 30 DAS não houve diferença estatística entre os tratamentos. Aos 52 DAS as estirpes Bs05, Bs06 e Bs10 foram superiores as demais estirpes ($p < 0,05$) e a testemunha (tabela 3). Para a massa seca total (MST) na primeira avaliação, aos 30 DAS, a estirpe Bs10 foi superior aos demais tratamentos. Na segunda avaliação, aos 52 DAS, as estirpes Bs05, Bs06 e Bs10 foram superiores aos demais tratamentos ($p < 0,05$) (tabela 3).

Para o número de nódulos (NN) e massa seca dos nódulos (MSN) não houve diferenças entre os tratamentos nas duas avaliações, aos 30 e 52 DAS (tabela 3), não havendo efeito negativo da inoculação com *B. subtilis* UFT-Bs10 na nodulação. Para a altura de plantas (Alt), também não houve diferença significativa entre os tratamentos para as duas avaliações (tabela 3).

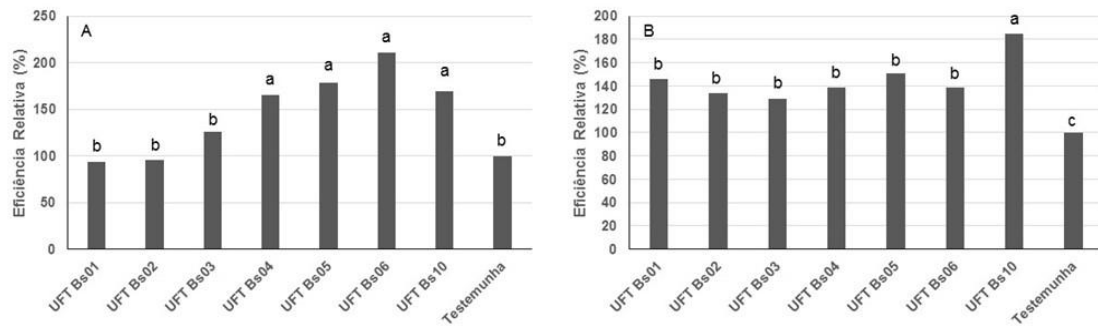
Tabela 3. Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST), número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN) e altura (Alt) de soja cultivar M 8210 ipro inoculada com diferentes isolados de *Bacillus subtilis*.¹

Tratamentos	MSPA (g)	MSR (g)	MST ¹ (g)	NN	MSN (mg)	Alt (cm)
30 DAS						
Bs01	1,26 c	0,83 a	2,09 b	13,3 a	32 a	26,6 a
Bs02	1,68 b	0,80 a	2,49 b	14,3 a	34 a	27,6 a
Bs03	1,71 b	0,78 a	2,49 b	13,0 a	34 a	25,0 a
Bs04	1,63 b	1,03 a	2,66 b	13,3 a	30 a	27,3 a
Bs05	1,71 b	0,83 a	2,54 b	13,3 a	34 a	26,0 a
Bs06	1,60 b	0,82 a	2,42 b	14,3 a	38 a	25,0 a
Bs10	2,54 a	0,98 a	3,62 a	15,0 a	40 a	28,6 a
Testemunha ²	1,69 b	0,69 ab	2,38 b	13,3 a	34 a	27,0 a
CV3 (%)	15,6	15,1	12,9	21,6	-	12,3
52 DAS						
Bs01	4,07 b	2,85 b	6,92 b	43,3 a	92 a	37,6 a
Bs02	4,65 b	2,20 c	6,86 b	53,3 a	93 a	41,3 a
Bs03	5,06 a	2,38 c	7,44 b	48,0 a	97 a	48,0 a
Bs04	3,30 c	2,57 b	5,87 c	24,0 a	93 a	38,6 a
Bs05	5,79 a	3,68 a	9,47 a	59,3 a	107 a	43,3 a
Bs06	4,46 b	3,79 a	8,25 a	52,6 a	107 a	44,3 a
Bs10	5,67 a	3,96 a	9,63 a	51,0 a	111 a	41,3 a
Testemunha	3,47 c	2,39 c	6,86 b	44,3 a	91 a	46,6 a
CV ² (%)	11,3	13,2	10,1	20,4	23,4	8,7

¹ Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade. ² Testemunha sem inoculação de *B. subtilis*. ³ CV: Coeficiente de Variação.
Fonte: Dados da Pesquisa, 2021.

Quanto à eficiência relativa (ER) para a parte aérea (figura 1), que relaciona a biomassa da parte aérea dos tratamentos inoculados com isolado de *B. subtilis* ao tratamento testemunha, aos 30 e 52 DAS a estirpe Bs10 foi superior aos demais tratamentos, com aumento acima de 100 e 80%, respectivamente, em relação a testemunha (figura 1).

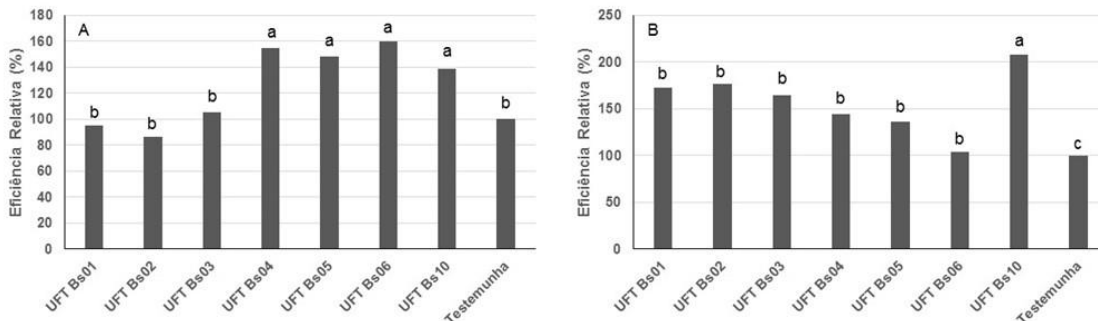
Figura 1. Eficiência relativa, para a massa seca da parte aérea, da soja cv. M 8210 ipro, inoculados com estirpes de *Bacillus subtilis* em relação a testemunha (sem inoculação), aos 30 (A) e 52 (B) dias após a semeadura.



*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5%.
Fonte: Dados da Pesquisa, 2021.

Quanto à eficiência relativa (ER) para a raiz, aos 30 DAS as estirpes Bs04, Bs05, Bs06 e Bs10 foram superiores aos demais tratamentos ($p < 0,05$), com aumento da ER acima de 40% em relação a testemunha. Aos 52 DAS a estirpe Bs10 foram superiores ($p < 0,05$) as demais, com aumento acima de 100% superiores em relação a testemunha (figura 2).

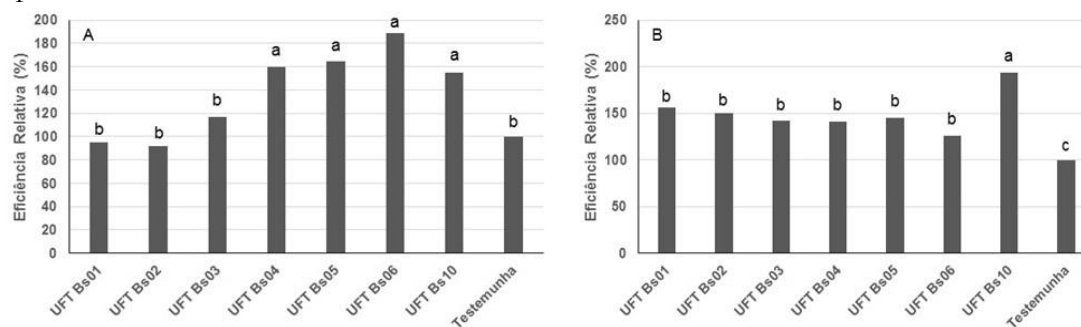
Figura 2. Eficiência relativa, para a massa seca da raiz, da soja M 8210 ipro inoculados com estirpes de *Bacillus subtilis* em relação a testemunha (sem inoculação), aos 30 (A) e 52 (B) dias após a semeadura.



*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott.
Fonte: Dados da Pesquisa, 2021.

Quanto à eficiência relativa (ER) para a massa seca total, aos 30 DAS as estirpes Bs04, Bs05, Bs06 e Bs10 foram superiores aos demais tratamentos ($p < 0,05$), com aumentos acima de 50% em relação a testemunha. Aos 52 DAS a estirpe Bs10 foi superior as demais ($p < 0,05$), com aumento de 180% em relação a testemunha (figura 3).

Figura 3. Eficiência relativa, para a massa seca total, da soja cv. M 8210 ipro inoculados com estirpes de *Bacillus subtilis* em relação a testemunha (sem inoculação), aos 30 (A) e 52 (B) dias após a semeadura.



Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2021.

Os isolados de *B. subtilis* mostraram capacidade de proporcionar um maior incremento de biomassa em plantas de soja. Esse aumento pode estar ligado aos vários mecanismos pelos quais essa bactéria atua, como a produção de ácido cianídrico, fitohormônios, enzimas e na disponibilização de nutrientes (P e N) (BRAGA JUNIOR, 2019; GUIMARÃES et al., 2021; SANTOS et al., 2021).

Um fator pelo qual os isolados de *B. subtilis* em teste podem ter atuado para aumento no incremento da biomassa é na disponibilidade e solubilização de nutrientes como o fósforo e o nitrogênio. Além disso, outros mecanismos que estimulam o crescimento das plantas estão também relacionados com o metabolismo microbiano no solo (KALAM et al., 2020). Cerqueira et al. (2015) em seu trabalho utilizando quatro isolados de *Bacillus* spp. realizou testes *in vitro* onde confirmou a produção de AIA, ARA (redução de acetileno) e ACC-deaminase por esses isolados. Saharan, Nehra (2011) em seu trabalho observaram que espécies de *Bacillus* contribuíram para melhoria de diferentes parâmetros de raiz, tal como o enraizamento, comprimento de raízes e teor de matéria seca, e que a inoculação com isolados produtores de AIA aumentou a absorção de alguns nutrientes, promovendo o crescimento da batata doce e maior enraizamento de mudas de eucalipto.

O efeito *in vivo* pela exposição de células vivas de *B. subtilis* pode ocasionar a promoção de crescimento e/ou o biocontrole (ZOHORA et al., 2016; MARDANOVA et al., 2017; MOHAMED et al., 2018; GUIMARÃES et al., 2021). Araujo et al. (2012) reportaram em seu trabalho utilizando o feijão caupi cultivar BRS Guariba, que a inoculação de *B. subtilis* (PRBS-1) proporcionou o maior aumento no crescimento da planta, maior fixação de N e não afetou a nodulação, aos 40 e 55 dias após a semeadura. Araujo et al. (2010) em experimento com feijão caupi avaliando a co-inoculação de *B. subtilis* e *Bradyrhizobium* mostrou que nos tratamentos

inoculados, houve um aumento na nodulação do feijão-caupi com a co-inoculação, sugerindo uma influência do *B. subtilis* na promoção de nodulação pelo *Bradyrhizobium* inoculado.

Resultados semelhantes também foram reportados por Mohamed et al. (2018) e Kalam et al. (2020) para o tomate, Guimarães et al. (2021) para a cultura do milho, Santos et al. (2021) para a cultura da aveia branca e Rezende et al. (2021) para o feijão.

O isolado de *B. subtilis* Bs10 mostrou-se eficiente nas variáveis analisadas em relação aos demais isolados e a testemunha sem inoculação. A eficiência do uso de *B. subtilis* no crescimento de plantas está relacionado com as características biológicas deste micro-organismo que expressa facilidades para a manutenção de sua viabilidade em bioformulados e com isso a potencialidade para promover o crescimento vegetal.

A utilização de bactérias que possuam capacidade de solubilização de fósforo e produção de AIA, em meio líquido em um intervalo de tempo reduzido, é uma característica essencial para a seleção de isolados para a produção de inoculantes, mostrando a capacidade dos isolados testados no presente estudo como possíveis microrganismos de bioprodutos como promotor de crescimento vegetal de plantas.

Conclusão

Todos os isolados foram capazes de solubilizar fosfato e produzir ácido indol acético (AIA). Os isolados de *B. subtilis* mostraram-se eficiência nas variáveis de biomassa da parte aérea e radicular de plantas de soja, com destaque para o isolado *B. subtilis* Bs10.

O uso destes isolados de *B. subtilis* não interferiu na nodulação da soja, contribuindo ainda para o aumento do número e peso dos nódulos.

REFERÊNCIAS

- ABHIJITH, Ramya et al. Occurrence of Phosphate-Solubilizing Bacteria in Rhizospheric and Pneumatophoric sediment of *Avicennia marina*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, v. 5, n. 4, p. 284-288, 2017.
- ABREU, C. S. et al. Maize endophytic bacteria as mineral phosphate solubilizers. *Genetics and Molecular Research*, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2017.
- AHMAD, Maqshoof et al. Preliminary study on phosphate solubilizing *Bacillus subtilis* strain Q3 and *Paenibacillus* sp. strain Q6 for improving cotton growth under alkaline conditions. *PeerJ*, v. 6, e5122, 2018.
- ARAUJO, Fábio Fernandes de; GUERREIRO, Renato Tadeu. Bioprospection of *Bacillus* isolates promoters of corn growth in natural and sterile soil. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 34, n. 4, p. 837-844, Jul-Aug. 2010.

- ARAUJO, Fábio, Fernando de et al. Controle genético, químico e biológico de *Meloidoginose* na cultura da soja. ***Pesquisa Agropecuária Tropical***, Goiânia-GO, v. 42, n. 2, p. 52-60, 2012.
- BERGENSEN, F. J. et al. Studies of natural populations and mutants of Rhizobium in the improvement of legume inoculants. ***Plant Soil***, v. 46, (Supplement, 1), p. 3-16, 1971.
- BOTELHO, Mariane da Rosa; LEONCIO, Mariane da Rosa. Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria isolated from garlic (*allium sativum*). ***Scientia Agraria***, v. 18, n. 3, p. 95-106, 2017.
- BRAGA JUNIOR, Gaspar Moreira et al. Efficiency of inoculation by *Bacillus subtilis* on soybean biomass and productivity. ***Revista Brasileira de Ciências Agrárias***, v.13 n.4, e5571.
- BRAGA JUNIOR, Gaspar Moreira. **Bioprospecção e eficiência de *Bacillus subtilis* como promotor de crescimento vegetal na cultura da soja**. 2019. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, Brasil.
- CERQUEIRA, Wilza Fagundes et al. Influência de bactérias do gênero *Bacillus* sobre o crescimento de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). ***Enciclopédia Biosfera***, v.11, n. 20, 2015.
- CHAUHAN, Anjali et al. Tricalcium phosphate solubilization and nitrogen fixation by newly isolated *Aneurini bacillus aneurinilyticus* CKMV1 from rhizosphere of *Valeriana jatamansi* and its growth promotion al effect. ***Brazilian Journal of Microbiology***, v. 48, n. 2, p. 294-304, 2017.
- CLEMENTE, Junia Maria et al. Use of *Bacillus* spp. as growth promoter in carrot crop. ***African Journal of Agricultural Research***, v. 11, n. 35, p. 3355-3359, 2016.
- CONTRERAS-CORNEJO, Hexon Angel et al. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. ***FEMS Microbiology Ecology***, Oxford, v. 92, p. 1-17, 2016.
- DIAZ, Paola Andrea Escobar et al. *Bacillus* spp. as plant growth-promoting bacteria in cotton under greenhouse conditions. ***Australian Journal of Crop Science***, v. 13, n. 12, p. 2003-
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (2011). ***Manual de métodos de análise de solo***. 230p, 2011 Rio de Janeiro, RJ: Embrapa-CNPQ.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. ***Revista Brasileira de Biometria***, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- GORDON, S. A.; WEBER, R. P. Colorimetric estimation of indole acetic acid. ***Plant Physiology***, Rockville, v. 26, n. 1, p. 192-195, 1951.
- GUIMARÃES, Vandeir Francisco et al. Eficiência de inoculante contendo *Bacillus megaterium* (B119) e *Bacillus subtilis* (B2084) para a cultura do milho, associado à fertilização fosfatada. ***Research, Society and Development***, v. 10, n. 4, p: 1-28, 2021.
- HARA, Francisco Adilson dos Santos; OLIVEIRA, Luiz Antônio de. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álidos de Presidente Figueiredo, Amazonas. ***Acta Amazônica***, v. 34, n. 3, p. 343-357, 2004.
- JAIN, Shekhar et al. Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria from soybean rhizosphere and their effect on soybean plant growth promotion. ***Int. J. Advanc. Sci. Tec. Res.***, v. 5, p. 397-410, 2016.
- JAMES, T. S. et al. (Ed.) ***Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***, 721 p. New York: Springer, 2005.
- KALAM, S.; et al. Functional and molecular characterization of plant growth promoting *Bacillus* isolates from tomato rhizosphere. ***Helijon***, v. 6, e04734, 2020.
- KAVAMURA, Vanessa Nessner et al. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. ***Microbiol. Res.***, v. 168, n. 4, p. 183–191, 2013.

- KUMARI, Sonali et al. Optimization of Indole-3-Acetic Acid Production by Diazotrophic *B. subtilis* DR2 (KP455653), Isolated from Rhizosphere of *Eragrostis cynosuroides*. **International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences**, v. 7, n. 2, p. 20-25, 2018.
- KUNDAN, Rishi et al. Plant growth promoting rhizobacteria: mechanism and current prospective. **Journal of Fertilizers and Pesticides**, v.6, n.2, p. 1-9, 2015.
- MACHADO, Daniele Franco Martins et al. *Trichoderma* no Brasil: O Fungo e Bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MARDANOVA, Ayslu Mirkacimovna et al. *Bacillus subtilis* strains with antifungal activity against the phytopathogenic fungi. **Agricultural Sciences**, v. 8, p. 1-20, 2017.
- MENDES, Gilberto de Oliveira et al. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 239-249, 2014.
- MILANI, Rafael de Mello. **Diversidade de bactérias epífitas e endofíticas da cultura do milho**. 2017. 44f. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal.
- MOHAMED, Eman A. H. et al. Phosphate Solubilization by *Bacillus subtilis* and *Serratia marcescens* Isolated from Tomato Plant Rhizosphere. **Journal of Environmental Protection**, v. 9, n. 03, p. 266-277, 2018.
- MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. **Analytical Chemistry Acta**, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.
- NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol. Lett.** v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.
- PEEL, Murray C et al. Update world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Science**, v. 11, p. 1633-1644, 2007.
- PÉREZ-MONTAÑO, F. et al. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. **Microbiological Research**, v. 169, n. 5-6, p. 325-336, 2014.
- PRINSEN, E. et al. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: Evidence for a non-tryptophan dependent pathway. **Mol Plant-Microbe Interact.**, v. 6, n. 5, p. 609-615, 1993.
- RABINOVITCH, Leon; OLIVEIRA, Edmar Junior. **Coletânea de procedimentos técnicos e metodologias empregadas para o estudo de *Bacillus* e gêneros esporulados aeróbios correlatos**. Rio de Janeiro: Montenegro Comunicação, 160 p. 2015.
- REETHA, S. et al. Isolation of indole acetic acid (IAA) producing rhizobacteria of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* and enhance growth of onion (*Allium cepa*. L). **International Journal of Microbiological Research**, v. 3, n. 2, p. 568-574, 2014.
- REZENDE, Cássia Cristina et al. Physiological and agronomic characteristics of the common bean as affected by multifunctional microorganisms. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 599-618, 2021.
- RIBEIRO, Vitória Palhares et al. Endophytic *Bacillus* strains enhance pearl millet growth and nutrient uptake under low-P. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 40-46, 2018.
- SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A critical review. **Life Sci. Med. Res.**, v. 21, p. 1-30, 2011.
- SANTOS, Alan Francisco et al. Biometria e estado nutricional da cultura da aveia branca (*Avena sativa* L.) sob inoculação com *Bacillus subtilis* e *B. megaterium*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, e53410515270, 2021.
- SARAVANAKUMAR, Kandasamy et al. Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*. **Biological Control**, v. 94, p. 37-46, 2016.

- SICUIA, Oana et al. Phytohormone-like producing *Bacillus* increase tomato seedlings quality. **Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies**, v. 20, n. 1, p. 83-88, 2016.
- SHAFI, Jamil et al. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, Abingdon, v. 1, n. 1, p. 446-459, 2017.
- SLEPECKY, Ralph A. et al. The genus *Bacillus* – nonmedical. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K. (eds): **The Prokaryotes. A Handbook of the Biology of Bacteria**. Springer Science + Business Media, New York: p. 530–555, 2006.
- SPAEPEN, Stijn et al. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiol Rev.**, v. 31, p. 425-448, 2007. SPAEPEN, Stijn et al. Effects of *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. **Plant Soil**, v. 312, p. 15-23, 2008.
- SOUZA, Rocheli et al. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38, 4, 401-419 (2015). SOUZA, Klismann Alberto; BITTENCOURT, Geraldo Moreira. Avaliação do crescimento das exportações brasileiras de soja em grão. **Revista de Política Agrícola**, v. 28, n. 4, p. 48, 2020.
- STAMFORD, N. P.; NAHAS, E. Microrganismos solubilizadores de minerais. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P. (Ed.). **Biociencia aplicada à agricultura**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Recife, PE: Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), 2010. p. 561-581.
- TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: 6. ed. Artmed, 888p, 2017.
- ZEILINGER, Susanne et al. Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n.2, p. 74-90, 2016.
- ZHONG, Chuan-qing et al. Dissolving mechanism of strain P17 on insoluble phosphorus of yellow-brown soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 937–943, 2014.
- ZOHORA, Umme Salma et al. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* K1 by Iturin a producer *Bacillus subtilis* RB14 seed treatment in tomato plants. **Advances in Microbiology**, v. 6, p. 424-431, 2016.