



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.

Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura

Luanna Paula Lopes

Caracterização funcional de bactérias isoladas de nódulos de *Acacia mearnsii* e seus efeitos sobre *Phaseolus vulgaris* em condições de campo

Umuarama

2026

Luanna Paula Lopes

Caracterização funcional de bactérias isoladas de nódulos de *Acacia mearnsii* e seus efeitos sobre *Phaseolus vulgaris* em condições de campo

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de mestre em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.
Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Glacy Jaqueline da Silva

Umuarama

2026

Ficha Catalográfica

L864c Lopes, Luanna Paula.

Caracterização funcional de bactérias isoladas de nódulos de *Acacia mearnsii* e seus efeitos sobre *Phaseolus vulgaris* em condições de campo / Luanna Paula Lopes. – Umuarama: Universidade Paranaense – UNIPAR, 2026.

35 f.

Orientadora: Dr^a. Glacy Jaqueline da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Ácido indol-3-acético. 2. Bioinoculantes. 3. Feijoeiro. 4. Microbiologia do solo. 5. Promoção do crescimento vegetal. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 579.3

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

Caracterização funcional de bactérias isoladas de nódulos de *Acacia mearnsii* e seus efeitos sobre *Phaseolus vulgaris* em condições de campo

Dissertação aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dr Odair Alberton
Universidade Paranaense - Unipar

Dr^a. Meire Pereira de Souza Ferrari
Instituto Federal do Paraná - IFPR

Dr^a. Glacy Jaqueline da Silva
Universidade Paranaense – Unipar - Presidente

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por sua infinita bondade, por ter guiado meus passos e permanecido presente em todos os momentos da minha vida. Sua força, sabedoria e amparo foram essenciais para que eu superasse os desafios e alcançasse mais esta conquista.

À minha família, expresso minha mais sincera gratidão pelo amor, incentivo, compreensão e apoio incondicional durante toda esta caminhada. Cada gesto de carinho e cada palavra de encorajamento foram fundamentais para que eu seguisse firme na realização deste sonho.

À minha orientadora, manifesto meu profundo reconhecimento pela confiança, dedicação, disponibilidade e comprometimento. Sua orientação foi indispensável para o desenvolvimento desta pesquisa, e sua generosidade em compartilhar conhecimentos, esclarecer dúvidas e incentivar meu crescimento acadêmico e profissional fizeram toda a diferença nessa trajetória.

Aos professores que fizeram parte desta jornada, em especial àqueles que contribuíram diretamente para a execução dos experimentos, registro minha gratidão pelos ensinamentos, pela colaboração e pelo apoio oferecido ao longo desta pesquisa.

À Universidade Paranaense (UNIPAR) e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, agradeço pela infraestrutura, pelos recursos disponibilizados e pelo suporte institucional, fundamentais para a realização deste trabalho.

Por fim, estendo meu agradecimento a todas as pessoas que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a concretização desta dissertação. Cada incentivo, colaboração e demonstração de apoio tiveram importância significativa nesta conquista.

Muito obrigada!

SÚMARIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	MATERIAL E MÉTODOS	4
2.1	Isolados bacterianos	4
2.2	Solubilização de Fosfato de Ferro e Fosfato de Alumínio <i>in vitro</i>	4
2.3	Quantificação de Ácido Indol-3-Acético (AIA) e Ácido Giberélico (GA ₃)....	5
2.4	Formação de biofilme	5
2.5	Experimento a campo – cultivo de feijoeiro inoculado com isolados produtores de AIA	6
2.5.1	<i>Localização e caracterização da área experimental</i>	6
2.5.2	<i>Delineamento experimental, implantação e condução dos experimentos</i> .	6
2.5.3	<i>Análise de Nitrogênio</i>	8
2.5.4	<i>Análise de Fósforo</i>	9
2.5.5	<i>Análise enzimática</i>	10
2.5.6	<i>Determinação da respiração basal do solo</i>	11
2.5.7	<i>Carbono da biomassa microbiana do solo</i>	11
2.5.8	<i>Quociente metabólico</i>	11
2.6	Análise estatística	12
2.6.1	<i>Ensaio in vitro</i>	12
2.6.2	<i>Experimento de campo</i>	12
3.	RESULTADOS.....	13
3.1	Solubilização de Fosfato de Alumínio e de Ferro.....	13
3.2	Síntese de Ácido Indol-3-Acético (AIA) e Ácido Giberélico (GA ₃).....	14
3.3	Formação de biofilme	15
3.4	Experimento à campo	15
3.4.1	<i>Parâmetros morfológicos</i>	15

3.4.2	<i>Determinação de Nitrogênio e Fósforo foliar</i>	20
3.4.3	<i>Parâmetros microbiológicos do solo</i>	21
3.4.4	<i>Atividade enzimática</i>	21
3.4.5	<i>Produtividade</i>	22
4.	DISCUSSÃO	23
5.	CONCLUSÃO	28
6.	REFERÊNCIAS	29
7.	AGRADECIMENTOS	34
8.	EXPECTATIVAS FUTURAS	35

Caracterização funcional de bactérias isoladas de nódulos de *Acacia mearnsii* e seus efeitos sobre *Phaseolus vulgaris* em condições de campo

RESUMO

Bactérias associadas às plantas podem apresentar características funcionais de interesse para o desenvolvimento de inoculantes agrícolas. Este trabalho teve como objetivo caracterizar bactérias isoladas de nódulos de *Acacia mearnsii* quanto à solubilização de fosfatos de ferro e alumínio, à produção de ácido indol-3-acético (AIA) e ácido giberélico (GA₃) e à formação de biofilme, bem como avaliar os efeitos de isolados selecionados sobre o feijoeiro e os atributos microbiológicos do solo em condições de campo. Foram avaliados 21 isolados bacterianos provenientes de nódulos ativos de *A. mearnsii*. Todos produziram AIA, com diferenças entre eles, e os isolados A9, A14, A29 e A31 foram selecionados para o experimento de campo por estarem entre aqueles com maior produção. Após 96 horas de incubação, foram observadas diferenças entre os isolados quanto à solubilização de fosfato de ferro. Não foram detectadas solubilização de fosfato de alumínio, produção de GA₃ ou formação de biofilme nas condições avaliadas. O experimento de campo foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, com quatro blocos e cinco tratamentos: Controle, sem inoculação; e inoculação com os isolados A9; A31; A29 e A14. Foram avaliados atributos morfológicos, fisiológicos, fotoquímicos, nutricionais, bioquímicos e produtivos do feijoeiro nos estádios R6 e R8, além da respiração basal, do carbono da biomassa microbiana e do quociente metabólico do solo. A inoculação não alterou a maioria dos atributos morfológicos, fisiológicos, fotoquímicos e produtividade de grãos. Entretanto, foram observadas respostas específicas: A31 apresentou o maior teor de N na parte aérea em R8; A29 apresentou o maior teor de P nesse estágio; A29 e A14 aumentaram a atividade de quitinase em relação ao controle; e A14 apresentou maior número de vagens que Controle e A9. Os tratamentos A31, A29 e A14 também apresentaram maiores valores de respiração basal e carbono da biomassa microbiana do solo em comparação ao controle e A9, sem alteração significativa do quociente metabólico. Conclui-se que os isolados apresentaram características funcionais distintas e promoveram respostas específicas no sistema solo-planta. Assim, os efeitos observados precisam ser confirmados em novos experimentos de campo antes da recomendação desses isolados como inoculantes para o feijoeiro.

Palavras-chave: ácido indol-3-acético; bioinoculantes; feijoeiro; microbiologia do solo; promoção do crescimento vegetal.

Luanna Paula Lopes

Functional Characterization of Bacteria Isolated from *Acacia mearnsii* Nodules and Their Effects on *Phaseolus vulgaris* under Field Conditions

ABSTRACT

Plant-associated bacteria may exhibit functional traits of interest for the development of agricultural inoculants. This study aimed to characterize bacteria isolated from *Acacia mearnsii* nodules regarding iron and aluminum phosphate solubilization, indole-3-acetic acid (IAA) and gibberellic acid (GA₃) production, and biofilm formation, as well as to evaluate the effects of selected isolates on common bean plants and soil microbiological attributes under field conditions. Twenty-one bacterial isolates obtained from active nodules of *A. mearnsii* were evaluated. All isolates produced IAA, with differences among them, and isolates A9, A14, A29, and A31 were selected for the field experiment because they were among those with the highest IAA production. After 96 h of incubation, differences among isolates were observed in iron phosphate solubilization. No aluminum phosphate solubilization, GA₃ production, or biofilm formation was detected under the evaluated conditions. The field experiment was conducted in a randomized complete block design, with four blocks and five treatments: Control, without inoculation; and inoculation with the isolates A9, A31, A29, and A14. Morphological, physiological, photochemical, nutritional, biochemical, and yield-related traits of common bean plants were evaluated at the R6 and R8 growth stages, along with soil basal respiration, microbial biomass carbon, and metabolic quotient. Inoculation did not affect most morphological, physiological, photochemical traits or grain yield. However, specific responses were observed: A31 resulted in the highest shoot N content at R8; A29 resulted in the highest P content at this stage; A29 and A14 increased chitinase activity compared with the control; and A14 resulted in a higher number of pods than the control and A9. Treatments A31, A29, and A14 also showed higher soil basal respiration and microbial biomass carbon than the control and A9, with no significant effect on the metabolic quotient. It is concluded that the isolates exhibited distinct functional traits and promoted specific responses within the soil–plant system. Therefore, the observed effects should be confirmed in further field experiments before these isolates can be recommended as inoculants for common bean.

Key-words: indole-3-acetic acid. bioinoculants. common bean. soil microbiology. plant growth promotion.

1. INTRODUÇÃO

A agricultura é a principal fonte de alimentos para a humanidade e um pilar essencial para a economia mundial. No entanto, ao longo dos anos, a busca incessante por aumento de produtividade levou a um crescimento no consumo de fertilizantes sintéticos, o que vem gerando efeitos negativos devido ao seu manejo e uso inadequado desses produtos, além de causar degradação do solo devido à contaminação, pode levar à salinização e acidificação do solo, e ainda contribuir para a desregulação das condições climáticas (Zuhriddin, 2024; Sharma, Giri, Kumar, 2024).

A agricultura sustentável tem ganhado cada vez mais destaque no setor agrícola. As inovações em bioinsumos, que substituem fertilizantes sintéticos, enfrentam desafios significativos. O uso de biofertilizantes inoculados via semente, por exemplo, auxilia na fixação de nitrogênio (N), na absorção de nutrientes e água, melhorando assim a fertilidade do solo e a saúde das plantas (Da Silva, 2024).

O solo é base da vida terrestre e é rico em nutrientes, minerais e uma variedade de microrganismos fundamentais para o equilíbrio ecológico. Porém, vem sendo explorado incorretamente, e isso vem acarretando problemas que afetam diversos fatores (Evangelista *et al.*, 2024).

Um dos problemas que vêm sendo enfrentados em diferentes agroecossistemas é a disponibilidade de fósforo (P) no solo. Embora o solo seja uma fonte crucial de P, as reservas de P vêm de depósitos minerais que não se renovam naturalmente em curto prazo, levando ao esgotamento. Mesmo quando presente em grande quantidade no solo, apenas cerca de 0,1% do fósforo está disponível para as plantas devido a inúmeros processos biogeoquímicos que limitam sua disponibilidade, representando um grande desafio para o crescimento e desenvolvimento vegetal (Schipanski; Bennett, 2021; Rosas *et al.*, 2024).

Segundo Santoro (2024), práticas agrícolas como o uso excessivo de fertilizantes fosfatados causam impactos negativos, esgotando as reservas naturais de P e desencadeando processos de adsorção e precipitação. Esses processos envolvem a ligação do P às superfícies dos colóides e sua reação com elementos como cálcio (Ca), ferro (Fe) e alumínio (Al), formando fosfatos insolúveis.

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR) são uma abordagem promissora e inovadora na agricultura sustentável. Esses microrganismos colonizam a rizosfera ao redor das raízes das plantas, desempenhando um papel vital no crescimento e

desenvolvimento vegetal, destacando-se como biofertilizantes e bioinoculantes no mercado agrícola sustentável (Liu *et al.*, 2024). Segundo Shah *et al.* (2021), as PGPR desempenham várias interações benéficas. As bactérias diazotróficas, em particular, fixam o N atmosférico e sintetizam compostos benéficos, promovendo um desenvolvimento e crescimento superior das plantas. Um dos compostos orgânicos liberados por essas bactérias é o fitohormônio ácido indol-3-acético (AIA), conhecido pela sua potencialização na interação planta-microrganismo, essa auxina desempenha um papel influenciador no metabolismo hormonal da planta, estimulando o crescimento das raízes, aumentando a absorção de nutrientes e água e ajudando a planta a suportar os estresses ambientais (Etesami; Glick, 2024).

A *Acacia mearnsii*, popularmente conhecida como acácia-negra, é uma leguminosa arbórea amplamente cultivada no sul do Brasil (Oliveira, 1968) e capaz de estabelecer associações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN). Seus nódulos podem abrigar bactérias com características funcionais de interesse agrícola, incluindo fixação biológica de N, produção de fitormônios e mobilização de nutrientes. Nesse contexto, isolados provenientes desses nódulos constituem uma fonte potencial de microrganismos promotores do crescimento vegetal.

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*) apresenta elevada importância alimentar e econômica no Brasil, constituindo um dos principais componentes da alimentação da população e uma relevante fonte de proteínas, carboidratos, fibras e minerais. Para a safra 2025/2026, a produção nacional de feijão foi estimada em aproximadamente 3 milhões de toneladas, evidenciando a importância da cultura para o abastecimento do mercado interno (CONAB, 2026). Nesse cenário, o Paraná se destaca como o principal estado produtor de feijão do país, com participação expressiva na produção de feijão-preto. Em 2025, a produção paranaense atingiu o recorde de 879,9 mil toneladas e, apesar da redução da área cultivada e da produção projetada para 2026, o Estado manteve sua posição de liderança nacional (PARANÁ, 2026). Dessa forma, o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas capazes de favorecer a nutrição, o desenvolvimento e a estabilidade produtiva do feijoeiro apresenta especial relevância para a agricultura paranaense.

Embora bactérias isoladas de nódulos de *A. mearnsii* já tenham demonstrado capacidade de solubilizar fosfato de cálcio, produzir AIA e promover respostas em plantas de trigo (De Lima *et al.*, 2024), sua diversidade funcional ainda não foi completamente caracterizada. Em particular, permanecem pouco conhecidos o potencial desses isolados para solubilizar formas de P associadas ao Fe e ao Al, produzir outros fitormônios e formar biofilme. Além disso, ainda não está estabelecido se isolados selecionados por suas características

funcionais *in vitro* são capazes de promover respostas no feijoeiro e modificar atributos microbiológicos do solo em condições de campo. Essa lacuna é relevante porque o desempenho de microrganismos promotores do crescimento vegetal pode variar de acordo com a espécie vegetal, as condições ambientais e as interações com a microbiota nativa do solo.

Diante desse contexto, formulou-se a hipótese de que bactérias isoladas de nódulos de *A. mearnsii* apresentam características funcionais distintas e que a inoculação de isolados selecionados com base na produção de ácido indol-3-acético promove respostas específicas nos atributos nutricionais, bioquímicos e morfoagronômicos de *Phaseolus vulgaris*, bem como nos atributos microbiológicos do solo, em condições de campo. Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar funcionalmente bactérias isoladas de nódulos de *A. mearnsii* quanto à solubilização de fosfato de Fe e de Al, síntese hormônios vegetais (AIA e GA₃) e formação de biofilme, bem como avaliar os efeitos de isolados selecionados sobre o crescimento, a fisiologia, a nutrição, as respostas bioquímicas e a produtividade de *P. vulgaris*, além dos atributos microbiológicos do solo, em condições de campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido nas dependências do Departamento de Biotecnologia Aplicada à Agricultura (Unipar), localizadas no campus I e no campus III da Universidade Paranaense – Unipar, Umuarama, Paraná, Brasil.

2.1 Isolados bacterianos

Foram utilizadas 21 cepas bacterianas provenientes de nódulos ativos de *A. mearnsii*, isoladas e documentadas por Monteiro (2018). Esses isolados haviam sido previamente identificados como solubilizadores de fosfato de Ca e/ou produtores de AIA por De Lima *et al.* (2024). As cepas estavam armazenadas em meio Yeast Mannitol Agar (YM) com 30% de glicerol, e conservadas em freezer a -20 °C até sua utilização (Vincent, 1970).

2.2 Solubilização de Fosfato de Ferro e Fosfato de Alumínio *in vitro*

Os isolados bacterianos foram inicialmente cultivados em meio YM sólido (28 °C $\pm$ 2 °C, 7 dias) e posteriormente inoculados em YM líquido modificado contendo manitol (10 g L⁻¹), em triplicata, incubados a 28 °C e 120 rpm por 48 h para pré-crescimento. O potencial de solubilização foi avaliado utilizando National Botanical Research Institute's Phosphate (NBRIP) modificado (Nautiyal, 1999), preparado sem fosfato e suplementado com FePO₄ ou AlPO₄ precipitados *in situ*. Para isso, o meio NBRIP base foi autoclavado e, após resfriamento, receberam-se assepticamente soluções estéreis de KH₂PO₄ e FeCl₃·6H₂O ou AlCl₃·6H₂O, adicionadas sequencialmente para promover a precipitação controlada do fosfato insolúvel. O pH final foi ajustado para 6,8, e o meio foi distribuído em frascos estéreis sem nova autoclavagem.

Os isolados foram inoculados no NBRIP modificado e incubados a 28 °C e 150 rpm, com coletas em 72 h e 96 h. As culturas foram centrifugadas (10.000 g, 10 min⁻¹), e o sobrenadante foi utilizado para quantificação do fosfato solubilizado. A concentração de P solúvel foi determinada pelo método colorimétrico do molibdato-ascórbico (880 nm), utilizando um branco de matriz (NBRIP + precipitado sem inóculo) e uma curva padrão de KH₂PO₄. Os valores foram expressos em mg L⁻¹ após correção da curva e das diluições aplicadas.

2.3 Quantificação de Ácido Indol-3-Acético (AIA) e Ácido Giberélico (GA₃)

A quantificação de ácido indol-3-acético (AIA) e de ácido giberélico (GA₃), incluindo controles e padrões de calibração, foram realizadas por espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo (Xevo TQ-S, Waters) no Centro de Instrumentação Científica da Universidade de Granada. Para essa análise, utilizou-se a técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/MS). As culturas bacterianas foram inicialmente cultivadas em meio líquido YM, em triplicata, e ajustadas para uma densidade óptica de 0,5 na escala de McFarland, equivalente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹. Após essa padronização, as culturas foram incubadas a 28 °C sob agitação contínua a 120 rpm por 72 horas, as culturas foram centrifugadas a 10.000 rpm durante 10 minutos para remoção de células e detritos. O sobrenadante foi acidificado com HCl 1N até pH 2,5 e extraído três vezes com volumes iguais de acetato de etila. As fases orgânicas foram combinadas e evaporadas a seco sob fluxo de N. Os resíduos foram redissolvidos em 1 mL de metanol e filtrados por meio de filtros de seringa (0,22 µm) antes da injeção no sistema de CG/MS (Gordon; Weber, 1951).

Para a quantificação, foi preparada uma curva de calibração utilizando soluções metanólicas dos padrões analíticos de ácido indol-3-acético (AIA; Sigma-Aldrich) e ácido giberélico A₃ (GA₃; Duchefa Biochemie), nas concentrações de 1, 4, 20, 100 e 500 µg L⁻¹.

2.4 Formação de biofilme

Para a produção de biofilme, a densidade bacteriana das culturas foi ajustada para 0,5 na escala de McFarland. O meio líquido YM foi inoculado com a cultura bacteriana, em triplicata, distribuindo-se 100 µL por poço em uma microplaca de 96 poços de fundo chato. A microplaca foi incubada sob agitação contínua a 120 rpm, a 28 °C, por 72 horas. Posteriormente, os poços foram lavados cuidadosamente com água, fixados com metanol e incubados por 15 minutos. Após esse período, o metanol foi descartado e o cristal violeta foi adicionado por 15 minutos. Em seguida, os poços foram novamente lavados com água e o corante foi solubilizado com ácido acético 3%, promovendo a descoloração. Após esse processo, a microplaca foi levada ao equipamento de Elisa, que mediu a absorbância em comprimento de onda de 570 nm, quantificando a formação do biofilme (Christensen *et al.*, 1985).

2.5 Experimento a campo – cultivo de feijoeiro inoculado com isolados produtores de AIA

2.5.1 Localização e caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido no período de março de 2025 a junho de 2025 em campo experimental da Universidade Paranaense – UNIPAR, campus III, localizada no município de Umuarama, Paraná (S 23° 45' 24", W 53° 18' 5"). As caracterizações químicas e físicas dos solos das áreas experimentais foram realizadas através da análise de material, proveniente de amostras compostas por dez subamostras profundidade de 0 a 0,20 m. De acordo com a análise de solo, não foi necessário fazer a calagem, visto que o solo apresentou pH dentro da faixa de normalidade, sendo feito adubação de cobertura com NPK (10-15-15), na recomendação de 240 kg ha⁻¹. Os dados da análise de solo são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas e granulométricas do solo da área experimental, localizado no município de Umuarama - PR, 2025.

Características químicas										
pH	V	P	MO	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC
CaC ₂	- % -	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	-----			Cmolc dm ⁻³ -----			
5,60	67,26	26,47	11,83	3,30	1,04	0,16	0,00	2,19	4,50	4,50
Características granulométricas										
Areia			Silte				Argila			
-----			%				-----			
75			11,25				13,75			

(P, K, e Micronutrientes) Extrator Mehlich-1; (Al, Ca, Mg) Extrator KCl 1 mol L⁻¹; (H+Al) pH SMP (7,5); (pH) Extrator CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. Análise realizada no Laboratório Solanalise, Cascavel, PR.

2.5.2 Delineamento experimental, implantação e condução dos experimentos

O experimento foi implantado em delineamento de blocos casualizados (DBC), com cinco tratamentos e 04 repetições, totalizando 20 parcelas experimentais. Os tratamentos foram definidos com base em análises preliminares que identificaram os microrganismos isolados posicionados entre aqueles com maiores valores numéricos de produção de AIA. Os tratamentos foram: Controle (sem inoculação); e inoculação com os isolados A9; A31; A29 e A14.

A cultivar de feijão utilizada no experimento foi IPR Tapicuru, com características de alto potencial produtivo, superior a $4,5 \text{ t ha}^{-1}$, com ciclo intermediário, tolerância a ferrugem, oídio e mosaico comum, além de resistência ao ácaro branco. Cada parcela experimental teve área de $6 \times 3 \text{ m}$, com espaçamento de 10 cm entre plantas e 45 cm entre linhas.

No pré-plantio, foi realizada a aplicação de 2 kg ha^{-1} de glifosato. A irrigação foi realizada por aspersão, com aplicações diárias. Foram utilizadas lâminas de 5 mm dia^{-1} do estabelecimento da cultura até o estágio V4 e de 10 mm dia^{-1} do florescimento até o final do enchimento das sementes.

A adubação foi realizada conforme as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciência de Solo (SBCS) (2017), aplicando-se 100 kg ha^{-1} de K_2O e 120 kg ha^{-1} de ureia, ambos em cobertura. Quanto ao manejo fitossanitário, efetuaram-se três aplicações de fitonim, na dose de 150 mL ha^{-1} , conforme a necessidade do controle, sendo aplicações definidas a partir do monitoramento da ocorrência de pragas durante o ciclo da cultura, não havendo estágio pré-estabelecido.

As sementes foram semeadas de maneira manual e após 24 h, foi realizada a inoculação na concentração de 1×10^9 . A aplicação foi feita com auxílio de equipamento de pulverização manual (costal). Antes da inoculação o campo foi irrigado por aspersores, durante 30 minutos visando assegurar umidade adequada e favorecer o estabelecimento das bactérias no solo.

Após a germinação as plantas foram monitoradas para garantir um adequado desenvolvimento até atingirem o estágio R6, período de florescimento, no qual foram avaliadas cinco plantas por parcela, consideradas subamostras, cujos valores foram utilizados para obtenção da média da unidade experimental, e realizou-se os seguintes análises morfológicas: com o auxílio de uma balança, paquímetro e fita métrica, avaliou-se comprimento de raízes (CR cm), comprimento de parte aérea (CPA cm), diâmetro de caule (DC cm), peso de massa fresca de raízes (MFR g planta^{-1}) e peso de massa fresca da parte aérea (MFPA g planta^{-1}). Posteriormente, o material vegetal foi acondicionado em estufa de circulação forçada de ar, a 40°C , até atingir massa constante, para a determinação das massas secas das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA). As avaliações fisiológicas foram realizadas, de forma não destrutiva, em folhas do terço médio de cinco plantas de cada parcela. Os índices de clorofila, flavonóis e antocianinas, bem como o índice de balanço de nitrogênio (NBI), foram determinados utilizando-se o sensor óptico foliar DUALEX® Scientific+ (FORCE-A, Orsay, França).

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada utilizando-se o Plant Stress Kit (Opti-Sciences, Hudson, NH, Estados Unidos). Após a adaptação das folhas ao escuro, foram determinadas a fluorescência mínima (F_0) e a fluorescência máxima (F_m), sendo a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II calculada pela relação $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$. Em folhas adaptadas à luz, foram obtidas a fluorescência em estado estacionário (F_s) e a fluorescência máxima após a aplicação de um pulso de luz saturante (F'_m). O rendimento quântico efetivo do PSII foi calculado por $Y(II) = (F'_m - F_s)/F'_m$. A taxa aparente de transporte de elétrons foi estimada pela expressão $ETR = Y(II) \times PAR \times 0,84 \times 0,5$, adotando-se PAR de $55 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, absorpt\u00e2ncia foliar de 0,84 e distribui\u00e7\u00e3o de 50% da energia absorvida para o PSII. O coeficiente de extin\u00e7\u00e3o fotoqu\u00edmica foi estimado pela express\u00e3o $qP = (F'_m - F_s)/(F'_m - F_0)$, utilizando-se F_0 como aproxima\u00e7\u00e3o de F'_0 , uma vez que a fluoresc\u00eancia m\u00ednima da folha adaptada \u00e0 luz n\u00e3o foi determinada. A extin\u00e7\u00e3o n\u00e3o fotoqu\u00edmica foi calculada por $NPQ = (F_m - F'_m)/F'_m$.

No est\u00e1dio R8, foi novamente feita avalia\u00e7\u00e3o das vari\u00e1veis fisiol\u00f3gicas, al\u00e9m da coleta de tecido foliar para an\u00e1lise enzim\u00e1tica, an\u00e1lise de f\u00f3sforo e nitrog\u00eanio. Foi coletado solo da rizosfera para determina\u00e7\u00e3o de respira\u00e7\u00e3o basal do solo, carbono da biomassa microbiana e quociente metab\u00f3lico.

A colheita dos gr\u00e3os foi realizada manualmente, 93 dias ap\u00f3s a semeadura, coletando-se 10 plantas por bloco para realiza\u00e7\u00e3o de contagem e pesagem de gr\u00e3os formados. Procederam-se tamb\u00e9m \u00e0s seguintes avalia\u00e7\u00f5es morfoagr\u00f4micas: n\u00famero de vagens por planta, peso total de vagens, n\u00famero de sementes por vagem, peso individual de vagens, peso total de vagens por planta, n\u00famero de n\u00f3dulos, massa seca de n\u00f3dulos, massa de gr\u00e3os de 10 plantas e estimativa de produtividade (kg ha^{-1}).

2.5.3 An\u00e1lise de Nitrog\u00eanio

A an\u00e1lise de N foi realizada 03 repeti\u00e7\u00f5es por blocos, utilizando aproximadamente 200 mg de mat\u00e9ria seca mo\u00edda, que foram colocados em tubos de ensaio para digest\u00e3o. A cada amostra foram adicionados 700 mg da mistura digestora e 5 mL de \u00e1cido sulf\u00fabrico concentrado.

Durante a digest\u00e3o, os tubos contendo o material foram colocados em um bloco digestor (em capela) e aquecidos at\u00e9 atingir 450°C , permanecendo por aproximadamente 4 horas, ou at\u00e9 que as amostras apresentassem colora\u00e7\u00e3o clara. Ap\u00f3s a digest\u00e3o, as amostras

foram resfriadas e receberam 10 mL de água destilada. Para reduzir o tempo de digestão, foi adicionado 1,0 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 30% antes do início do aquecimento.

Após o término da digestão, as amostras foram submetidas à destilação Kjeldahl. Antes de iniciar o processo, o registro de água do destilador foi aberto e o volume de água na caldeira foi verificado. Em seguida, os tubos com as amostras foram posicionados no suporte apropriado, e a válvula do copo dosador foi aberta para adição de hidróxido de sódio 15 N, até que a amostra apresentasse coloração escura. Após essa etapa, o copo dosador foi fechado.

Um béquer contendo 10 mL de solução indicadora foi colocado no suporte de coleta, e o destilador foi ligado, mantendo a destilação até que o volume de 40 a 50 mL fosse alcançado no béquer coletor.

Após a destilação, as amostras foram tituladas com solução de HCl 0,05 N. O ácido foi adicionado lentamente até o ponto de virada, caracterizado pela mudança de cor da solução, conforme o indicador utilizado. A quantidade de HCl consumida na titulação foi utilizada para o cálculo da concentração de N presente nas amostras (Hungria; Araujo, 1994).

2.5.4 *Análise de Fósforo*

A análise de P foi realizada utilizando o tecido foliar de 03 amostras de plantas por bloco das plantas cultivadas. As amostras de tecido vegetal foram secas a 60-70°C por 48 horas, moídas, e 500 mg das folhas secas foram colocadas em cadinhos de porcelana para incineração a 500°C por 4 horas. Após o resfriamento, foram adicionados 10 mL de HCl 1 mol L⁻¹, e as amostras foram aquecidas a 70-80°C por 10 minutos, seguidos de diluição com água deionizada.

Para a análise, 5 mL da amostra digerida foram pipetados em um béquer limpo, com a adição de 10 mL da solução ácida de molibdato de amônio e 35 mg de ácido ascórbico, seguidos de agitação e repouso. A densidade óptica foi medida em um espectrofotômetro utilizando absorbância determinada em espectrofotômetro a 880 nm. Simultaneamente, soluções padrão de fósforo foram preparadas a partir de KH_2PO_4 e diluídas em HCl 0,1 N. Essas soluções padrão, em triplicata, foram analisadas nas mesmas condições que as amostras, e a concentração de P (mg L⁻¹) foi determinada utilizando a equação da curva padrão $R=1,0$ (Martins; Reissmann, 2007; Nogueira; Souza, 2005).

2.5.5 Análise enzimática

A extração e quantificação das enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL, EC 4.3.1.5), superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) e quitinase (CHI, EC 3.2.1.14) foram conduzidas a partir de 03 amostras por bloco de tecidos foliares previamente congelados. Para cada amostra, aproximadamente 0,5 g de material vegetal foram macerados em nitrogênio líquido e homogeneizados com tampões específicos para cada enzima.

Para a extração enzimática, foram utilizados tampões específicos de acordo com as exigências de estabilidade e atividade de cada enzima. A SOD foi extraída utilizando-se tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, conforme descrito por Beauchamp e Fridovich (1971). Para a determinação da atividade de CHI, empregou-se tampão acetato de sódio 0,1 M, pH 5,0, seguindo o protocolo de Boller e Mauch (1988). Já a extração da PAL foi realizada em tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, de acordo com Zucker (1965). Após a homogeneização do tecido vegetal em cada tampão apropriado, os extratos foram centrifugados a $12.000 \times g$ por 20 minutos a 4 °C, sendo o sobrenadante imediatamente utilizado para as análises enzimáticas.

A atividade de CHI foi determinada segundo Boller e Mauch (1988), com modificações. Os extratos foram incubados a 40 °C por 20 minutos em meio contendo substrato quitinoso, e a atividade foi quantificada pela leitura da absorbância do sobrenadante a 550 nm. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína, corrigidos em relação aos controles, conforme Wirth e Wolf (1992),.

A atividade de SOD foi determinada pelo método clássico de inibição da fotoredução do nitro blue tetrazolium (NBT), conforme descrito por Beauchamp e Fridovich (1971). A reação foi conduzida sob exposição à luz fluorescente, e a absorbância foi medida a 560 nm. Uma unidade enzimática (U SOD) foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotoredução do NBT. Os resultados foram expressos em U SOD min^{-1} .

A atividade de PAL foi determinada segundo Koukol e Conn (1961). Os extratos foram incubados a 40 °C por 2 h em meio contendo L-fenilalanina como substrato. A formação de ácido trans-cinâmico foi quantificada por leitura da absorbância a 290 nm.

A atividade enzimática foi determinada com base em uma curva padrão de ácido *trans*-cinâmico, preparada a partir de uma solução estoque de 10 mM. A curva foi constituída pelas concentrações de 0, 50, 100, 200, 400, 600, 800 e 1.000 μM , em volume final de 1.500 μL , completado com tampão Tris. Os resultados foram calculados pela equação obtida por regressão linear da curva padrão e expressos em μmol de ácido *trans*-cinâmico $\text{h}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.5.6 Determinação da respiração basal do solo

A determinação da respiração basal do solo (RBS) foi realizada através da quantificação do CO₂ liberado após 48 horas de incubação em condições aeróbias, seguindo o método descrito em Alef (1995). O procedimento consistiu em incubar a amostra de solo em um recipiente hermético na presença de uma solução padronizada de NaOH. Após a incubação, o excesso de base foi dosado utilizando uma solução padronizada de HCl. As determinações foram feitas em triplicata e para cada amostra de solo foi realizado um branco, onde a incubação foi conduzida na ausência de solo (Stotzky, 1965). O resultado foi expresso em µg CO₂ g⁻¹ de solo seco hora⁻¹.

2.5.7 Carbono da biomassa microbiana do solo

O carbono da biomassa microbiana (BMS-C) foi determinado segundo metodologia da fumigação-extração estabelecida por Vance *et al.* (1987), que consiste em fumigar a amostra de solo com clorofórmio isento de álcool, seguindo-se a extração com solução de sulfato de potássio e determinação dos teores de C no extrato obtido. Para cada amostra, foi feito um branco, em que o solo não foi fumigado com clorofórmio. Os fatores para conversão de C para biomassa microbiana foram de 0,30 e 0,45 respectivamente, (Feigl *et al.*, 1995). O carbono da biomassa microbiana foi expresso em mg C kg⁻¹ de solo seco. (Silva *et al.*, 2007).

2.5.8 Quociente metabólico

O quociente metabólico (qCO₂) foi calculado pela relação entre a respiração basal do solo, que é expressa em mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, (SILVA *et al.*, 2007).

$$qCO_2 = \frac{RBS}{CBM}$$

em que, RBS é a Taxa de respiração basal do solo (mg de CO₂ kg⁻¹ dia⁻¹), e CBM é o Carbono da biomassa microbiana (mg de CO₂ kg⁻¹).

2.6 Análise estatística

2.6.1 *Ensaaios in vitro*

Os dados dos ensaios in vitro foram submetidos à análise de variância em delineamento inteiramente casualizado, considerando os isolados como tratamentos e 3 repetições. Quando detectado efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.6.2 *Experimento de campo*

Os dados do experimento de campo foram submetidos à análise de variância considerando o delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos e quatro blocos.

Os dados foram submetidos à análise estatística utilizando o ambiente Python, com auxílio dos pacotes *pandas*, *numpy* e *statsmodels*. Os dados foram analisados em delineamento em blocos casualizados, considerando cinco tratamentos e quatro blocos.

Inicialmente, os dados foram avaliados quanto à presença de possíveis valores discrepantes por meio do método do intervalo interquartil (IQR) e do teste de Grubbs. Em seguida, procedeu-se à análise de variância (ANOVA), considerando os efeitos de tratamentos e blocos. Os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias foram avaliados pelos testes de Shapiro–Wilk e Levene, respectivamente. Quando necessário, foi aplicada transformação logarítmica aos dados para atender aos pressupostos da ANOVA. Quando detectado efeito significativo de tratamentos ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (HSD) ao nível de 5% de probabilidade.

Adicionalmente, foi realizada uma análise de componentes principais (ACP) com o objetivo de explorar padrões multivariados e a associação entre variáveis. Os resultados foram apresentados por meio de biplot, permitindo a visualização simultânea das amostras e das variáveis, bem como a identificação de agrupamentos e relações estruturais no conjunto de dados.

Também foi conduzida uma análise de correlação de Pearson entre as variáveis avaliadas, visando quantificar a intensidade e direção das associações lineares. Os coeficientes de correlação foram interpretados com base em sua magnitude e significância estatística.

3. RESULTADOS

3.1 Solubilização de Fosfato de Alumínio e de Ferro

Em relação ao fosfato de ferro, no período incubado de 72 h não houve resultados significativos. A solubilização de ferro no período de incubação de 96h apresentou uma diferença significativa entre os isolados, conforme indicado pela ANOVA ($p < 0,001$; Figura 1). Neste intervalo, o destaque foi para os isolados B52, B50, G85, A14, A73, A71, B56, B68, A29, A84, A9, A83, K, B74, B92 e A31 com uma concentração variando de $25,5 \pm 12,1$ a $131,1 \pm 9,7 \text{ mg L}^{-1}$.

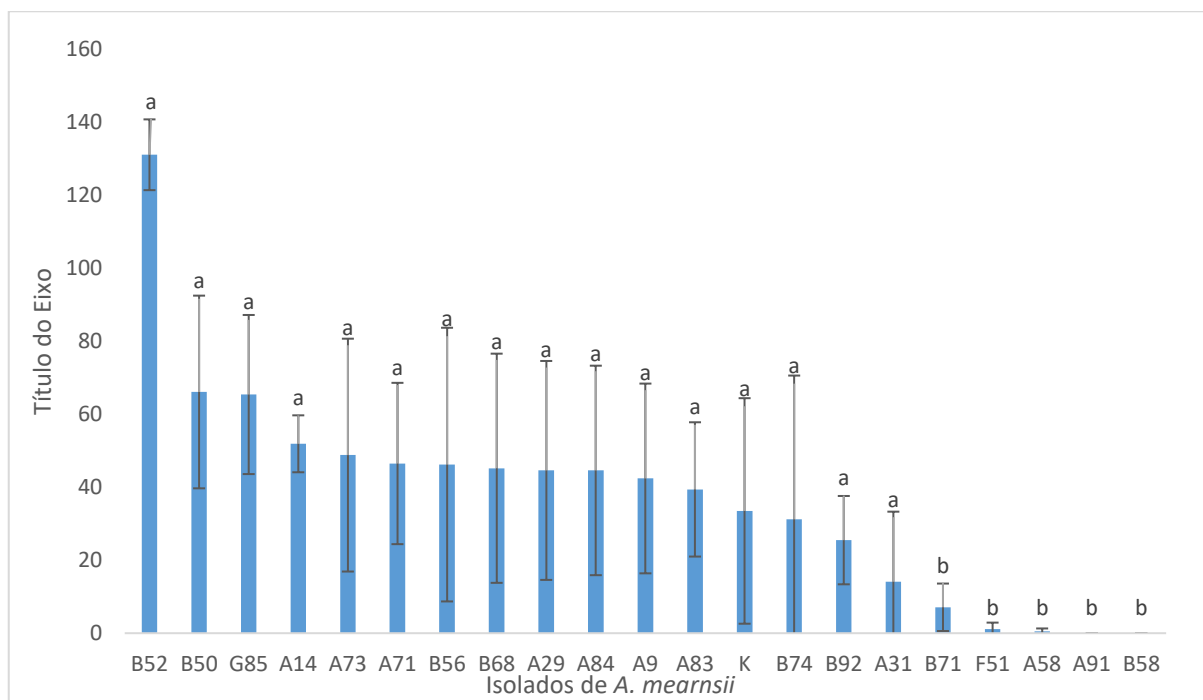


Figura 1. Solubilização de fosfato de ferro (FePO_4) por isolados bacterianos de *A. mearnsii* após 96 h de incubação em meio NBRIP modificado (Nautiyal, 1999). As barras representam as médias $\pm$ erro padrão ($n = 3$). As letras minúsculas representam diferenças entre isolados no tempo de 96 h, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

A solubilização de fosfato de Al não apresentou diferenças significativas entre os isolados no período de incubação tanto em 72 h quanto em 96 h, as leituras permaneceram próximas de zero, e não diferiram significativamente entre si, indicando que, nas condições experimentais adotadas, os isolados testados não foram capazes de mobilizar o P presente na forma de fosfato de Al. Esses resultados sugerem ausência de mecanismo eficientes para

solubilização desse composto específico ou a necessidade de ajustes nas condições de cultivo para indução dessa atividade.

3.2 Síntese de Ácido Indol-3-Acético (AIA) e Ácido Giberélico (GA₃)

Todos os isolados bacterianos avaliados foram capazes de produzir AIA, com diferenças significativas entre eles ($p \leq 0,05$). O isolado A31 apresentou a maior concentração de AIA ($533,91 \pm 31,67 \mu\text{g L}^{-1}$), não diferindo significativamente de A9, A14, A29, A73, B56, B71, A84, A58, B68, G85 e B74. Entretanto, A31 apresentou produção significativamente superior à observada em A91, B50, B52, A70, B92, K, A83, B58 e F51. O isolado F51 apresentou a menor concentração de AIA ($261,49 \pm 6,85 \mu\text{g L}^{-1}$), enquanto os demais isolados apresentaram valores intermediários e formaram grupos estatísticos sobrepostos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (figura 2).

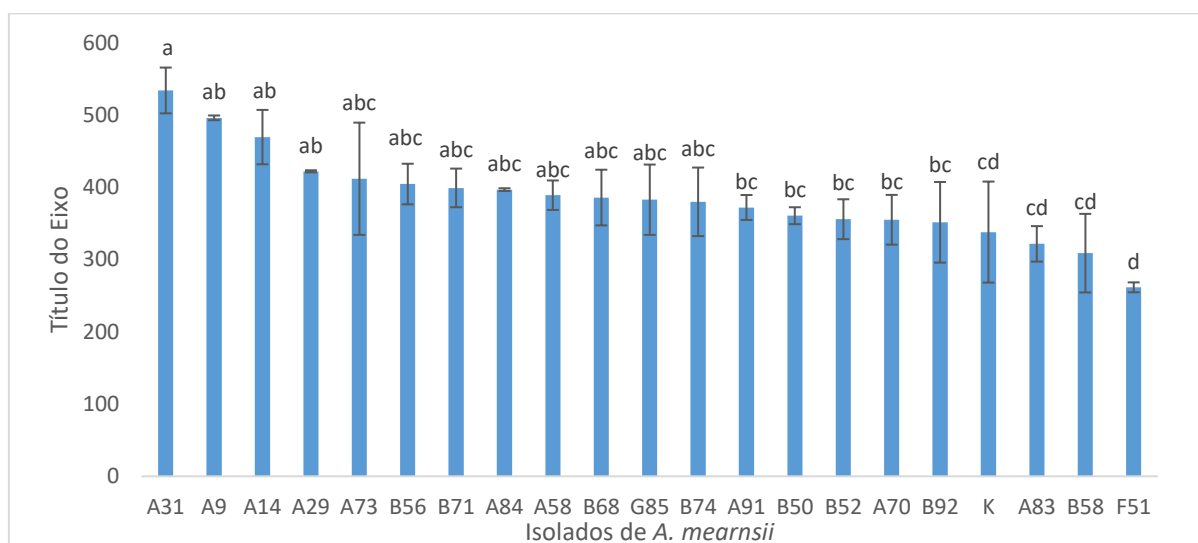


Figura 2. Produção de ácido indol-3-acético (AIA) por isolados bacterianos obtidos de nódulos de *A. mearnsii*. As barras representam a concentração média de AIA ($\mu\text{g L}^{-1}$), acompanhada do erro padrão. Letras distintas sobre as barras indicam diferenças estatisticamente significativas entre os isolados, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os isolados A31, A9, A14 e A29 foram selecionados para a avaliação em condições de campo por estarem entre aqueles com maior produção numérica de AIA. Entretanto, devido à sobreposição entre os grupos formados pelo teste de Tukey, esses isolados não foram significativamente superiores a todos os demais.

Não foi detectada produção de GA₃ por nenhum dos isolados nas condições avaliadas.

3.3 Formação de biofilme

Não foi detectada formação de biofilme por nenhum dos isolados nas condições experimentais avaliadas.

3.4 Experimento à campo

3.4.1 Parâmetros morfológicos

Para a avaliação das variáveis morfológica, apenas o comprimento da raiz (CR) apresentou resultado significativo, para as variáveis analisadas, comprimento da parte aérea (CPA), diâmetro do caule (DC), massa fresca da raiz (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA), não houve diferença significativas entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2: Avaliação dos parâmetros morfológicos de plantas de feijão inoculadas com diferentes cepas bacterianas, avaliadas em estágio R6. Os parâmetros incluem comprimento de raízes, comprimento da parte aérea, diâmetro de caule, massa fresca de raízes, massa fresca da parte aérea, massa seca de raízes, massa seca da parte aérea.

Trat.	CR (cm)	CPA (cm)	DC (mm)	MFR (g planta ⁻¹)	MFPA (g planta ⁻¹)	MSR (g planta ⁻¹)	MSPA (g planta ⁻¹)
Controle	11,67 a	80,70 a	0,73 a	2,30 a	59,12 a	0,68 a	8,01 a
A9	7,77 bc	73,40 a	0,65 a	2,47 a	62,73 a	0,70 a	8,74 a
A31	9,62 ab	87,02 a	0,78 a	2,40 a	61,82 a	0,69 a	8,69 a
A29	6,83 c	80,60 a	0,92 a	2,48 a	63,74 a	0,71 a	7,99 a
A14	10,47ab	78,88 a	0,76 a	2,19 a	65,59 a	0,66 a	8,71 a
CV (%)	25,81	21,77	23,91	18,71	23,42	0,26	3,03

*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV (%)).

Somente o comprimento radicular apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O controle apresentou a maior média, sendo superior ao isolado A9 e A29, mas não diferiu de A31 e A14. Em relação ao isolado A29, o comprimento radicular observado no controle foi 70,8% maior. Conforme a tabela 3, analisou-se a formação de nódulos nas raízes em estágio R8. O controle apresentou a maior média de nódulos e diferiu significativamente apenas do isolado A9, que apresentou a menor média. Os isolados A31, A29 e A14

apresentaram valores intermediários e não diferiram significativamente do controle ou do isolado A9. Não houve diferenças para a massa seca de nódulos e a massa de grãos.

Tabela 3: Avaliação dos parâmetros morfológicos de plantas de feijão inoculadas com diferentes cepas bacterianas, avaliadas em estágio R8. Os parâmetros incluem número de nódulos nas raízes, massa seca dos nódulos (g) e massa de grãos de 10 plantas (g).

Tratamento	Nod	MSNod	MG10
Controle	11 a	0,08 a	40,47 a
A9	8,4 b	0,06 a	44,07 a
A31	9,6 ab	0,07 a	44,36 a
A29	9,4 ab	0,07 a	52,62 a
A14	9,5 ab	0,07 a	45,29 a
CV%	17,06	19,29	13,94

*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV (%)).

A análise das variáveis fisiológicas avaliadas (índice de balanço interno de nitrogênio (NBI), teor de clorofila, flavonoides e antocianina) nos estádios R6 e R8 revelou ausência de diferenças estatísticas entre os tratamentos. Os valores de NBI mantiveram-se dentro de uma faixa estreita em ambos os estádios fenológicos, indicando estabilidade no estado nutricional das plantas, mesmo diante da inoculação com diferentes cepas. De forma semelhante, o teor de clorofila não apresentou variações significativas, demonstrando que a atividade fotossintética permaneceu uniforme entre os tratamentos ao longo do desenvolvimento. Os níveis de flavonoides e antocianina também se mantiveram constantes nos dois estádios fenológicos, indicando ausência de alterações no metabolismo secundário e nas respostas associadas a estresses ambientais. Em conjunto, esses resultados demonstram que a inoculação das diferentes cepas bacterianas não modificou de maneira detectável o desempenho fisiológico das plantas, que apresentaram comportamento homogêneo durante todo o ciclo avaliado.

Considerando a complexidade dos conjuntos de dados, aplicou-se a Análise de Componentes Principais (ACP) com o objetivo de reduzir a dimensionalidade e sintetizar a variabilidade dos dados. Os resultados do ACP, apresentados por meio de biplot (Figura 3) demonstraram que os dois primeiros componentes principais explicaram conjuntamente 66,6% da variância total dos dados, sendo 41,5% ao CP1 e 25,1% ao CP2.

A separação das variáveis em 3 clusters demonstram um desempenho das plantas de forma agrupada e não em fator isolado.

No biplot, o tratamento de controle apresentou associação com clorofila, qP, qCO₂, peso individual de vagens, comprimento radicular e NBI. Essa associação multivariada representa a proximidade entre o tratamento e as variáveis no espaço da ACP, não implicando superioridade estatística do controle para esses atributos.

O tratamento com o isolado A9 demonstra uma influência no crescimento estrutural das plantas, devido às variáveis: número de sementes/plantas, peso fresco e seco das raízes, MS aérea e flavonoides, serem as dominantes. Isso sugere plantas com maior vigor radicular, e consequente melhor absorção dos nutrientes.

O tratamento com o isolado A31 demonstra a influência dominante nas variáveis BMS-C, respiração basal, NPQ e número de vagens por planta, isso indica um solo biologicamente ativo com maior taxa de ciclagem de carbono.

O tratamento com o isolado A29 apresentou associação com as variáveis antocianina, MF e MS aérea, produtividade e flavonoides. Este padrão indica um sistema biologicamente ativo, com uma maior atividade secundária metabólica e a presença das antocianinas e flavonoides podem indicar maior capacidade de resposta à estresse.

O tratamento com o isolado A14 apresentou associação com desempenho de produtividade devido as variáveis: peso total de vagem, ETR, diâmetro de caule, número de vagens, NBI e clorofila serem mais expressivas, isto mostra que as plantas apresentaram uma alta taxa fotossintética, uma estrutura robusta e bom status nitrogenado.

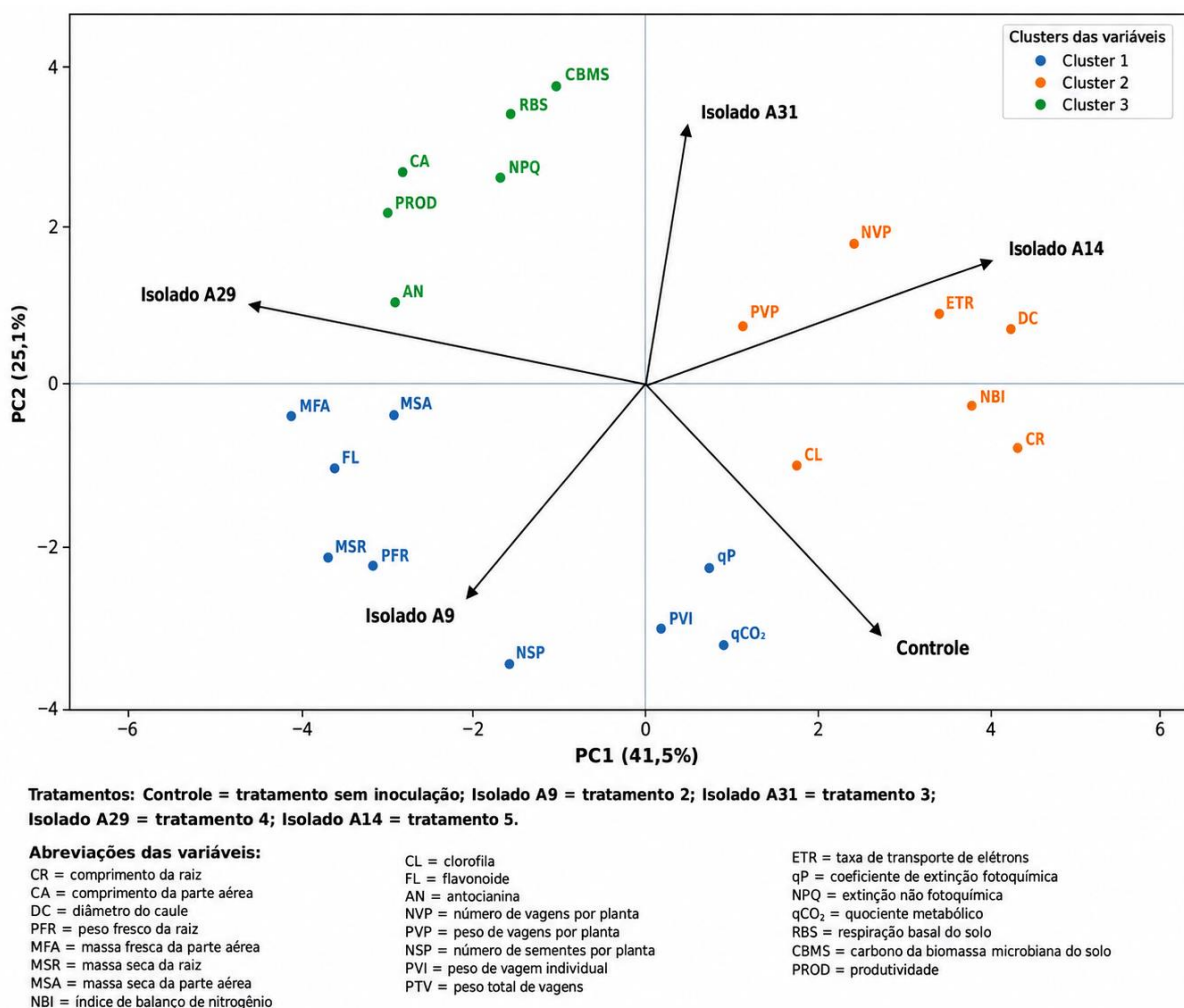


Figura 3. Biplot da análise de componentes principais (ACP) dos atributos morfoagronômicos, fisiológicos, bioquímicos e microbiológicos avaliados em *Phaseolus vulgaris* submetido aos tratamentos Controle, isolados A9, A31, A29 e A14. As cores representam os agrupamentos obtidos pela análise de agrupamento.

A matriz de correlação de Pearson (Figura 4) evidenciou diferentes padrões de associação entre as variáveis avaliadas. As correlações positivas mais expressivas foram observadas entre a respiração basal do solo e o carbono da biomassa microbiana ($r = 0,907$), entre o número de vagens por planta e o peso de vagens por planta ($r = 0,917$), além da forte associação entre massa fresca e massa seca da parte aérea ($r = 0,897$) e entre massa fresca e massa seca de raízes ($r = 0,823$), demonstrando elevada consistência entre essas variáveis. Também foram observadas correlações negativas relevantes, destacando-se aquelas entre clorofila e antocianina ($r = -0,711$), índice de balanço de nitrogênio (NBI) e flavonoides ($r = -0,698$), quenching fotoquímico (qP) e flavonoides ($r = -0,655$), além da relação negativa entre produtividade e diâmetro do caule ($r = -0,618$). De modo geral, as variáveis relacionadas ao crescimento vegetativo e aos componentes de produção apresentaram maior grau de associação

entre si, enquanto os indicadores fisiológicos e bioquímicos apresentaram correlações específicas, refletindo a complexidade das respostas fisiológicas das plantas à inoculação bacteriana.

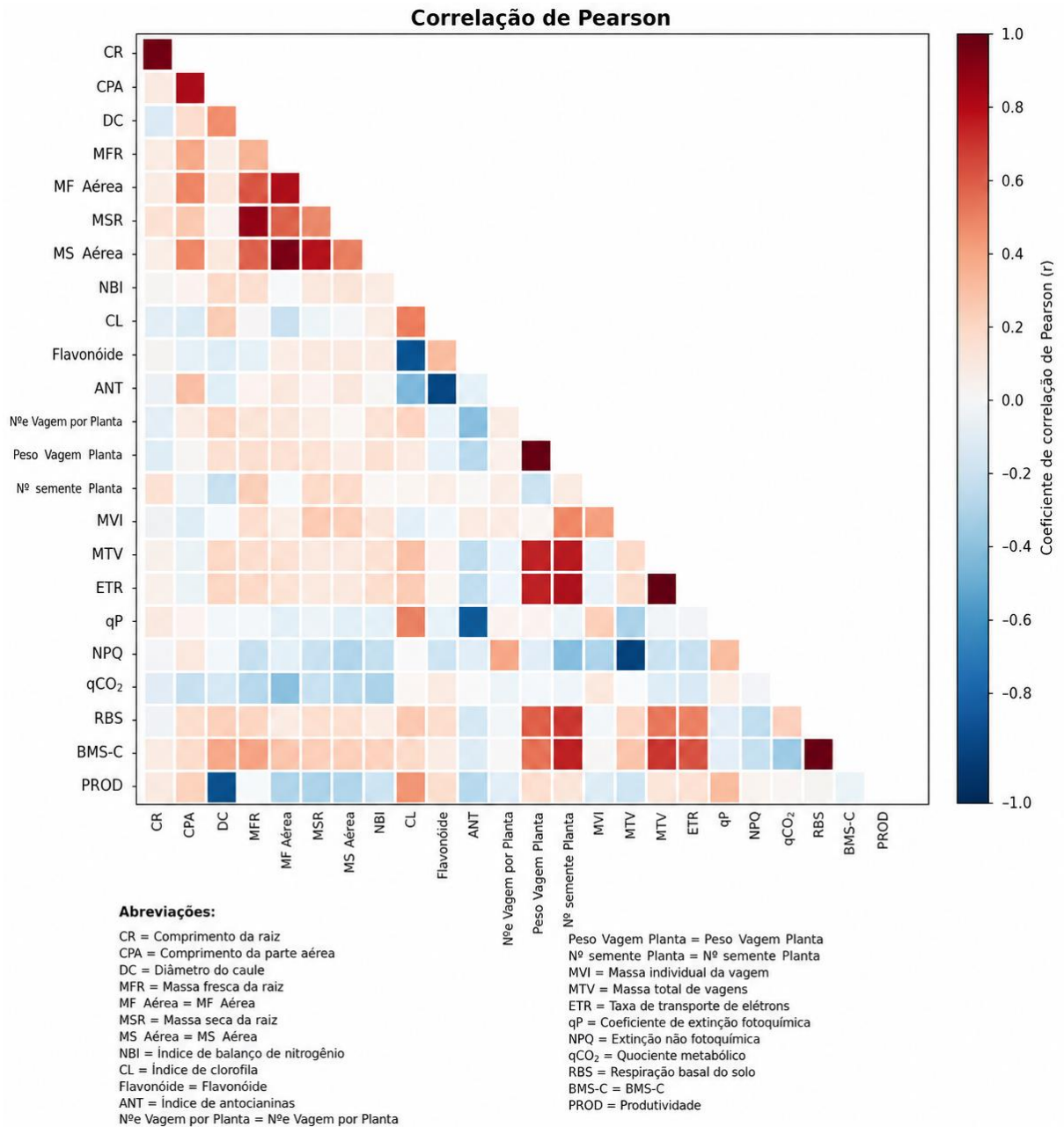


Figura 4: Matriz de correlação de Pearson ilustrando as inter-relações entre as variáveis avaliadas: clorofila, NBI, comprimento de raiz, peso de vagem por planta, ETR, peso total de vagem e diâmetro de caule, antocianina, produtividade, comprimento da parte aérea, NPQ, respiração basal do solo e carbono da biomassa microbiana. As correlações são categorizadas em altas (valores variando de 0,75 a 1 ou -0,75 a -1), médias (valores de 0,4 a 0,74 positivo ou negativo) e baixas (valores entre 0,39 até -0,39).

3.4.2 Determinação de Nitrogênio e Fósforo foliar

Em plantas colhidas em R6 não houve resultados que se diferem significativamente (Tabela 4). Em R8, o isolado A31 apresentou o maior teor foliar de N e diferiu de todos os demais tratamentos. Os isolados A9, A29 e A14 apresentaram valores intermediários, significativamente superior ao controle e inferior ao isolado A31. Esse resultado indica que o efeito da inoculação com A31 sobre o estado nutricional nitrogenado se tornou mais evidente em R8, quando o isolado A31 apresentou o maior teor foliar de N.

Tabela 4: Avaliação do nitrogênio foliar (mg g⁻¹) em plantas de feijão inoculadas com diferentes cepas bacterianas, avaliadas em estágio R6 e R8.

Tratamento	N R6	N R8
Controle	55,63 ± 9,41 a	41,33 ± 5,61 c
A9	52,25 ± 5,37 a	51,45 ± 5,30 b
A31	53,00 ± 10,08 a	64,44 ± 14,34 a
A29	54,55 ± 4,23 a	52,09 ± 5,77 b
A14	53,67 ± 8,16 a	50,14 ± 2,38 b
CV%	11,72	13,80

* Os valores representam média ± erro padrão seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao P foliar os tratamentos apresentarão variações entre os estádios fenológicos avaliados (R6 e R8), evidenciando respostas distintas à inoculação, indicando que os efeitos dos tratamentos são dependentes do momento de desenvolvimento da cultura (Tabela 5).

Tabela 5: Avaliação do fósforo foliar (mg/Kg P) em plantas de feijão inoculadas com diferentes cepas bacterianas, avaliadas em estágio R6 e R8.

Tratamento	P R6	P R8
Controle	11,09 ± 0,98 ab	09,94 ± 01,79 ab
A9	11,96 ± 04,10 a	07,33 ± 03,20 b
A31	08,89 ± 02,57 b	09,97 ± 01,31 ab
A29	11,46 ± 01,52 ab	12,75 ± 03,86 a
A14	11,78 ± 01,29 a	09,28 ± 0,80 b
CV%	23,20	30,14

* Os valores representam média ± erro padrão seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No estágio fenológico R6, o isolado A9 (11,96 mg kg⁻¹) e A14 (11,78 mg kg⁻¹) apresentaram os maiores valores médios, sendo superior ao isolado A31 (8,89 mg kg⁻¹), que

apresentou a menor teor foliar de P. O controle e o isolado A29 apresentaram valores intermediários, não diferindo significativamente dos demais. No estágio R8, observa-se uma mudança nos teores de P na planta com os tratamentos. O isolado A29 apresentou o maior teor de P na planta ($12,5 \text{ mg kg}^{-1}$), diferindo significativamente dos isolados A9 ($7,33 \text{ mg kg}^{-1}$) e A14 ($9,28 \text{ mg kg}^{-1}$), que apresentaram o menor valor. O controle e o isolado A31 apresentaram valores intermediários, não diferindo significativamente dos demais.

3.4.3 Parâmetros microbiológicos do solo

Em relação a microbiota do solo (Tabela 6), o $q\text{CO}_2$ revelou que não houve diferenças significativas, em contrapartida, as variáveis RBs e BMS-C os isolados A31, A29 e A14 apresentaram uma variação de 09,02 apresentaram maiores valores de RBs, com médias de $12,34 \pm 7,74$ (A31), $9,40 \pm 6,53$ (A29) e $9,02 \pm 8,77 \mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ de solo seco hora^{-1} (A14), respectivamente, diferindo do controle e do isolado A5, que apresentaram os menores valores (controle com média $1,65 \pm 0,92$ e isolado A9 com média $1,91 \pm 1,03 \mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ de solo seco hora^{-1}). Da mesma forma, o BMS-C foi significativamente superior nos isolados A31 ($700,37 \pm 575,57 \text{ mg C kg}^{-1}$ de solo seco), A29 ($907,20 \pm 230,71 \text{ mg C kg}^{-1}$ de solo seco) e A14 ($636,74 \pm 282,34 \text{ mg C kg}^{-1}$ de solo seco) em comparação ao controle ($231,49 \pm 69,65 \text{ mg C kg}^{-1}$ de solo seco) e ao isolado A9 ($220,35 \pm 96,60 \text{ mg C kg}^{-1}$ de solo seco).

Tabela 6. Quociente metabólico do solo ($q\text{CO}_2$ ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ BMS-C h}^{-1}$)), respiração basal do solo (RBS ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ solo seco dia^{-1})) e carbono da biomassa microbiana (BMS-C (mg C kg^{-1} solo seco)) em solo cultivado com feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) inoculado com diferentes cepas bacterianas isoladas de *Acacia mearnsii*.

Tratamento	$q\text{CO}_2$	RBS	BMS-C
Controle	$7,13 \pm 02,90 \text{ a}$	$1,65 \pm 0,92 \text{ b}$	$231,49 \pm 069,65 \text{ b}$
A9	$8,79 \pm 02,82 \text{ a}$	$1,91 \pm 01,03 \text{ b}$	$220,35 \pm 096,60 \text{ b}$
A31	$10,50 \pm 12,29 \text{ a}$	$12,34 \pm 07,74 \text{ a}$	$700,37 \pm 575,57 \text{ a}$
A29	$6,56 \pm 02,27 \text{ a}$	$9,40 \pm 06,53 \text{ a}$	$907,20 \pm 230,71 \text{ a}$
A14	$6,20 \pm 01,71 \text{ a}$	$9,02 \pm 08,77 \text{ a}$	$636,74 \pm 282,34 \text{ a}$

*Os valores representam média $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

3.4.4 Atividade enzimática

A atividade enzimática variou significativamente entre os tratamentos para PAL, SOD e CHI (Tabela 7). Para PAL, o isolado A29 apresentou a maior média e diferiu apenas do isolado

A31, que apresentou a menor atividade. O controle e os isolados A9 e A14 apresentaram valores intermediários e não diferiram significativamente dos isolados A31 ou A29, indicando indução mais intensa dessa via fenilpropanóide. Para SOD, apenas o isolado A9 apresentou atividade significativamente reduzida, enquanto o controle e os isolados A31, A29 e A14 formaram um grupo significativamente semelhante. Em relação a CHI, os isolados A29 e A14 apresentaram atividades superiores ao controle, enquanto os isolados A31 e A29 apresentaram valores intermediários.

Tabela 7. Atividade das enzimas fenil alanina amônio liase (PAL ($\mu\text{mol trans-cinnamic acid mg}^{-1} \text{ protein}^{-1}$)), superóxido dismutase (SOD (U SOD min^{-1})) e quitinase (CHI ($\text{UA min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ proteína}$)) em plantas de feijão inoculadas com diferentes cepas bacterianas.

Tratamento	PAL	SOD	CHI
Controle	171,81 $\pm$ 36,64 ab	0,625 $\pm$ 0,35 a	0,690 $\pm$ 0,28 b
A9	149,86 $\pm$ 41,72 ab	0,233 $\pm$ 0,10 b	01,015 $\pm$ 0,18 ab
A31	122,12 $\pm$ 28,92 b	0,384 $\pm$ 0,20 a	0,959 $\pm$ 0,06 ab
A29	255,19 $\pm$ 82,29 a	0,418 $\pm$ 0,13 a	01,094 $\pm$ 0,08 a
A14	229,49 $\pm$ 70,20 ab	0,589 $\pm$ 0,14 a	01,197 $\pm$ 0,04 a
CV%	27,8	39,9	13,97

*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV (%)). T1 controle (sem inoculação de cepa bacteriana); T2 inoculado com a cepa bacteriana A9; T3 inoculado com a cepa bacteriana A31; T4 inoculado com a cepa bacteriana A29; T5 inoculado com a cepa bacteriana A14

3.4.5 Produtividade

Em relação a produtividade, (tabela 8) observou-se diferença significativa apenas para a variável número de vagens, com o tratamento T5 apresentando superioridade estatística em relação à T1 e T2. Para as variáveis PV, PVI, PTV e Produtividade não houve diferença significativa. E quando analisamos a variável NS, o T2 (6,75) apresentou um resultado significativamente maior em relação aos tratamentos T3, T4 e T5, mas não diferiu de T1. Embora não tenha sido observada diferença significativa para produtividade, T4 apresentou média numérica 540 kg ha⁻¹ superior à de T1. Essa diferença representa apenas uma tendência numérica e não permite afirmar que a inoculação promoveu aumento de produtividade.

Tabela 8: Avaliação dos parâmetros de produtividade de plantas de feijão inoculadas com diferentes cepas bacterianas, avaliadas em estágio R8. Os parâmetros incluem a média de número de vagens (NV), peso de vagens (PV, g), número de semente (NS), peso de vagem individual (PVI, g), peso de vagem total (PVT, g) e produtividade (kg ha^{-1}).

Trat	NV	PV(g)	NS	PVI(g)	PVT(g)	Produtividade
T1	10,0 b	24,16 a	06,33 ab	02,45 a	120,81 a	1798 a
T2	10,4 b	25,50 a	06,75 a	02,33 a	127,52 a	1958 a
T3	14,0 ab	30,53 a	06,15 b	02,20 a	152,66 a	1971 a
T4	11,1 ab	27,04 a	06,14 b	02,32 a	135,21 a	2338 a
T5	15,9 a	36,50 a	05,98 b	02,29 a	182,54 a	2013 a
CV%	4,95	12,03	0,43	0,26	60,17	6,99

*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV (%)).

4. DISCUSSÃO

As rizobactérias promotoras de crescimento vem se destacando no mercado agrônomo pela redução de impactos negativos causados pelos agroquímicos e inúmeros benefícios em meio as condições adversas proporcionados ao solo e as plantas (Liu *et al.*, 2024). Neste estudo realizamos a caracterização funcional de bactérias extraídas de nódulos de *A. mearnsii* e avaliação do seu potencial em cultivo de feijão.

As bactérias extraídas de nódulos da *A. mearnsii* possui alta capacidade em solubilizar fosfato de Ca e sintetizar o ácido indol-3-acético (De Lima *et al.*, 2024). Neste estudo, os isolados B52, B50, G85, A14, A73, A71, B56, A29, A84, A9, A83, K, B74, B92 e A31, se destacaram na solubilização de fosfato de ferro, enquanto as cepas A31, A9, A14 e A29 estiveram entre os isolados com maiores valores numéricos de produção de AIA. Porém, as cepas avaliadas demonstraram incapacidade ao avaliar a produção de ácido giberélico, biofilmes e solubilização de fosfato de alumínio. Esses resultados demonstram que as rizobactérias promotoras de crescimento vegetal apresentam características fisiológicas, metabólicas e morfológicas distintas entre si, e essas diferenças não impedem que a planta absorva nutrientes e melhore seus processos vitais (Liu *et al.*, 2022; Sheng *et al.*, 2024).

Ao analisar os resultados dos parâmetros agrônômicos, observou-se que o tratamento controle apresentou a maior média de comprimento radicular, sendo superior a A9 e A29 mas não diferindo de A31 e A14. Segundo Eichmann, Richards e Schäfer (2021), os hormônios vegetais apresentam funções multifuncionais que extrapolam os efeitos causados sobre o metabolismo da planta. Os compostos orgânicos exsudados atuam como mediadores químicos

que são capazes de influenciar a arquitetura radicular, moldando diretamente a estrutura do microbioma associado as raízes (Galindo-Castañeda *et al.*, 2024). O maior comprimento radicular observado no controle pode estar relacionado a diferenças na sinalização entre a planta e a microbiota associada às raízes. A inoculação de bactérias produtoras de AIA pode modificar a arquitetura do sistema radicular, mas a direção e a intensidade dessa resposta dependem da concentração do fitormônio, da capacidade de colonização dos isolados e das condições ambientais (Etesami; Glick, 2024). Entretanto, como esses mecanismos não foram avaliados diretamente, não é possível determinar a causa do maior comprimento radicular observado no controle

Em relação à nodulação, o controle apresentou a maior média, embora tenha diferido significativamente apenas de A9, enquanto A31, A29 e A14 apresentaram valores intermediários. A formação de nódulos no tratamento controle provavelmente decorreu da associação do feijoeiro com rizóbios nativos, adaptados às condições edafoclimáticas da área experimental. Conforme discutido por Yerenko *et al.* (2025), a eficiência da simbiose entre leguminosas e rizóbios é influenciada tanto pela compatibilidade entre os organismos quanto pelas condições ambientais. Embora a introdução dos isolados possa ter modificado as interações entre a planta e a microbiota nativa, não foram avaliadas a identidade das bactérias presentes nos nódulos nem a capacidade de colonização dos isolados inoculados (Eichmann; Richards; Schäfer, 2021). Portanto, não é possível atribuir as diferenças observadas à competição entre os microrganismos.

Em relação aos valores sem diferença significativos na avaliação de índice de balanço de nitrogênio, clorofila, flavonoides, antocianinas, eficiência de transporte de elétrons, *quenching* de fluorescência não fotoquímica e *quenching* de proteção não fotoquímica nos estágios fenológicos R6 e R8, nos diz que a planta se encontrou em uniformidade em relação ao seu desenvolvimento. Gomes (2025) nos diz que a uniformidade observada está associada à inexistência de estresses ambientais suficientemente intensos para induzir a ativação dos mecanismos fotoprotetores e metabólicos. Entretanto, os resultados obtidos neste estudo não permitem afirmar ausência de estresse ambiental, uma vez que outros indicadores fisiológicos e bioquímicos envolvidos nas respostas ao estresse não foram avaliados.

A determinação do teor de N na parte aérea revelou respostas distintas entre os tratamentos nos estádios fenológicos avaliados. Em R6, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Em R8, o isolado A31 apresentou o maior teor de N na parte aérea, diferindo de todos os demais, enquanto os isolados A9, A29 e A14 também apresentaram valores superiores ao controle sem inoculação. Esses resultados indicam que o efeito da

inoculação sobre a nutrição nitrogenada se tornou mais evidente na fase reprodutiva, especialmente no isolado A31. O maior teor de N observado nas plantas inoculadas pode estar relacionado à influência dos isolados sobre a aquisição e o aproveitamento desse nutriente. O nitrogênio participa de processos essenciais ao crescimento vegetal, incluindo a formação de proteínas, ácidos nucleicos e clorofila, além de atuar na regulação do crescimento, do desenvolvimento radicular e das respostas aos estresses ambientais (Wang *et al.*, 2024). Bactérias promotoras do crescimento vegetal podem favorecer a nutrição nitrogenada por diferentes mecanismos, como a fixação biológica de N, a mineralização de compostos nitrogenados e o estímulo ao desenvolvimento radicular, aumentando potencialmente a capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas (Uyi *et al.*, 2024). No presente estudo, contudo, esses mecanismos não foram avaliados diretamente; portanto, sua relação com o maior teor de N deve ser considerada uma possível explicação, e não um mecanismo comprovado.

Essencial no crescimento da planta, o macro elemento fósforo desempenha na fisiologia da planta um papel muito importante. Na determinação de fósforo da parte aérea da planta em estágio fenológico R6, os isolados A9 e A14 demonstraram resultados significantes, enquanto em estágio fenológico R8, apenas o isolado A29 apresentou resultado significativo. Nos estudos realizados por Barqueiro *et al.* (2024), existem diversos fatores como: pH, exsudatos radiculares e condições do solo que modulam a eficiência microbiana e explicam essas diferenças entre os estádios. Assim, a resposta ao P depende tanto da fase da planta quanto da capacidade das cepas de manter atividade ao longo do ciclo.

A análise dos parâmetros qCO₂, RBS e BMS-C revelou diferenças marcantes entre os tratamentos. Os isolados A31, A29 e A14 apresentaram maiores valores de respiração basal do solo (RBS) e de carbono da biomassa microbiana (BMS-C) em comparação ao controle (T1) e ao tratamento e ao isolado A9. De acordo com Jorge *et al.* (2024), os valores indicados nos isolados A31, A29 e A14 reflete a um aumento no crescimento microbiano, impulsionado pela maior atividade respiratória e maior biomassa microbiana nesses tratamentos, e pela melhoria da qualidade biológica do solo. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para qCO₂, indicando que a inoculação não promoveu alteração detectável na eficiência metabólica da biomassa microbiana. Em conjunto, esses resultados apontam para um solo biologicamente mais dinâmico nos tratamentos inoculados, sem evidência de perda de eficiência metabólica da comunidade microbiana.

A análise multivariada, permitiu visualizar de forma integrada a relação entre os tratamentos e as variáveis avaliadas, demonstrando comportamentos distintos em relação a promoção de crescimento. Pode-se notar as associações multivariadas de cada isolado em

atributos fisiológicos, microbiológicos e produtivos da cultura, reforçando mais uma vez que o crescimento não depende de um único mecanismo, mas sim, da interação de múltiplos processos biológicos.

A atividade enzimática também revelou respostas distintas das plantas à inoculação das diferentes cepas. A PAL apresentou maior atividade ao isolado A29, indicando ativação mais intensa das vias fenilpropanóides, frequentemente associadas à síntese de compostos fenólicos envolvidos em defesa e lignificação (Yadav *et al.*, 2020).

Por outro lado, a atividade de SOD foi significativamente menor no isolado A9, enquanto o controle e os isolados A31, A29 e A14 não diferiram entre si. Como a SOD atua na dismutação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio (Waszczak *et al.*, 2018), sua menor atividade pode refletir tanto uma menor formação de espécies reativas de oxigênio quanto uma redução da capacidade antioxidante enzimática. Portanto, na ausência de marcadores complementares de estresse oxidativo, como peróxido de hidrogênio, malondialdeído e atividade de outras enzimas antioxidantes, esse resultado não permite concluir isoladamente que a inoculação com o isolado A9 apresentou menor estresse oxidativo. Esses resultados demonstram que cada cepa modulou vias metabólicas específicas, resultando em perfis distintos de ativação enzimática nas plantas inoculadas.

A atividade de CHI foi maior com a inoculação dos isolados A29 e A14 em comparação ao controle, enquanto os isolados A9 e A31 apresentaram valores intermediários. O aumento da atividade dessa enzima sugere a modulação de respostas bioquímicas potencialmente associadas à defesa vegetal, uma vez que as quitinases integram diferentes mecanismos de proteção das plantas e podem atuar na degradação da quitina presente na parede celular de fungos fitopatogênicos (Shobade *et al.*, 2024). Entretanto, na ausência de inoculação com patógeno ou de avaliação da severidade de doenças, esse resultado não comprova maior resistência das plantas.

A inoculação promoveu respostas distintas nos componentes de produção. O isolado A14 apresentou maior número de vagens em comparação ao controle e ao A29, enquanto o isolado A9 apresentou maior número de sementes por vagem que os isolados A31, A29 e A14, sem diferir do controle. Apesar dessas respostas, não houve diferença significativa na produtividade de grãos. A produtividade do feijoeiro resulta da contribuição conjunta de diferentes componentes, como número de vagens por planta, número de sementes por vagem e massa das sementes (Karavidas *et al.*, 2022). Assim, os resultados sugerem que as alterações observadas em componentes individuais foram insuficientes para aumentar a produtividade

final, possivelmente em razão da compensação entre esses componentes. A maior média numérica observada na inoculação do isolado A29 não caracteriza aumento de produtividade e deve ser interpretada apenas como uma tendência a ser confirmada em novos experimentos de campo.

5. CONCLUSÃO

Os isolados bacterianos provenientes de nódulos de *A. mearnsii* apresentaram características funcionais distintas. Todos produziram ácido indol-3-acético, embora os isolados selecionados para o experimento de campo tenham apresentado resultados significativamente com outros isolados. Parte dos isolados solubilizou fosfato de ferro após 96 horas de incubação, enquanto não foram detectadas solubilização de fosfato de alumínio, produção de ácido giberélico ou formação de biofilme nas condições experimentais avaliadas.

Em condições de campo, os efeitos da inoculação dependeram do isolado, da variável e do estágio fenológico. A inoculação não alterou a maioria dos atributos morfológicos, fisiológicos e fotoquímicos, tampouco promoveu aumento significativo da produtividade de grãos. Entretanto, foram observadas respostas específicas na nutrição mineral, nos componentes de produção, nas atividades enzimáticas das plantas e nos atributos microbiológicos do solo. O isolado A31, apresentou o maior teor de N na parte aérea em R8; O isolado A29, apresentou o maior teor de P nesse estágio e maior atividade de quitinase em relação ao controle e o isolado A14, aumentou o número de vagens e a atividade de quitinase. Os isolados A31, A29 e A14 também apresentaram maiores valores de respiração basal e carbono da biomassa microbiana do solo em comparação ao controle e ao isolado A9, sem alteração significativa do quociente metabólico.

Portanto, a hipótese de que os isolados apresentam características funcionais distintas e promovem respostas específicas no sistema solo-planta foi parcialmente sustentada. Assim, os isolados A31, A29 e A14 apresentam respostas de interesse que justificam novas avaliações, mas seu uso como inoculantes para o feijoeiro ainda requer confirmação em outros cultivos, condições edafoclimáticas e experimentos de campo, além da avaliação de sua capacidade de colonização e persistência no sistema solo-planta.

6. REFERÊNCIAS

- AERON, A. *et al.* Revisiting the plant growth-promoting rhizobacteria: lessons from the past and objectives for the future. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 4, p. 665–676, 2020.
- AGEFLOR – ASSOCIAÇÃO GAÚCHA DE EMPRESAS FLORESTAIS. Plantio da acácia negra no Rio Grande do Sul ganha estímulo. **AGEFLOR**, 14 out. 2022. Disponível em: <https://ageflor.com.br/2022/10/14/plantio-da-acacia-negra-no-rio-grande-do-sul-ganha-estimulo/>. Acesso em: 3 jul. 2024.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (ed.). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. London: **Academic Press**, 1995.
- BARQUERO, M. B. *et al.* Contrasting fertilization and phenological stages shape microbial-mediated phosphorus cycling in a maize agroecosystem. **Science of The Total Environment**, v. 951, art. 175571, 2024. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.175571.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276–287, 1971. DOI: 10.1016/0003-2697(71)90370-8.
- BOLLER, T.; MAUCH, F. Colorimetric assay for chitinase. **Methods in Enzymology**, v. 161, p. 430–435, 1988. DOI: 10.1016/0076-6879(88)61052-4.
- CHRISTENSEN, G. D.; SIMPSON, W. A.; YOUNGER, J. A.; BADDOUR, L. M.; BARRETT, F. F.; MELTON, D. M.; BEACHEY, E. H. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 22, n. 6, p. 996–1006, 1985.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2025/26: décimo levantamento**. Brasília, DF: Conab, v. 13, n. 10, jul. 2026. Disponível em: <https://www.gov.br/conab/pt-br/atuacao/informacoes-agropecuarias/safras/safra-de-graos/boletim-da-safra-de-graos/10o-levantamento-safra-2025-26>. Acesso em: 18 jul. 2026.
- DA SILVA MEDINA, G.; ROTONDO, R.; RODRÍGUEZ, G. R. Innovations in agricultural bio-inputs: commercial products developed in Argentina and Brazil. **Sustainability**, v. 16, n. 7, art. 2763, 2024.
- DE LIMA, J. D. *et al.* Potential of endophytic bacteria from *Acacia mearnsii*: phosphate solubilization, indole acetic acid production, and application in wheat. **Applied Soil Ecology**, v. 196, art. 105315, 2024. DOI: 10.1016/j.apsoil.2024.105315.
- EICHMANN, R.; RICHARDS, L.; SCHÄFER, P. Hormones as go-betweens in plant microbiome assembly. **The Plant Journal**, v. 105, n. 2, p. 518–541, 2021. DOI: 10.1111/tpj.15135.
- EVANGELISTA, S. J. *et al.* Soil security—Strategizing a sustainable future for soil. **Advances in Agronomy**, v. 183, p. 1–70, 2024. DOI: 10.1016/bs.agron.2023.10.001.

ETESAMI, H.; GLICK, B. R. Bacterial indole-3-acetic acid: a key regulator for plant growth, plant-microbe interactions, and agricultural adaptive resilience. **Microbiological Research**, v. 281, art. 127602, 2024. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127602.

FEIGL, B. J.; SPARLING, G. P.; ROSS, D. J.; CERRI, C. C. Soil microbial biomass in Amazonian soils: evaluation of methods and estimates of pool sizes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, n. 11, p. 1467–1472, 1995. DOI: 10.1016/0038-0717(95)00063-K

GALINDO-CASTAÑEDA, T.; HARTMANN, M.; LYNCH, J. P. Location: root architecture structures rhizosphere microbial associations. **Journal of Experimental Botany**, v. 75, n. 2, p. 594–604, 2024. DOI: 10.1093/jxb/erad421.

GÓMEZ, R. L. Non-photochemical quenching in plants: a chlorophyll *a* fluorescence perspective. In: LAGORIO, M. G. (ed.). *Fluorescence of Living Plants: Basics, Applications and Trends*. Cham: **Springer**, 2025. p. 39–84. (Comprehensive Series in Photochemical & Photobiological Sciences, v. 1). DOI: 10.1007/17361_2025_10.

GORDON, S. A.; WEBER, R. P. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. **Plant Physiology**, v. 26, n. 1, p. 192–195, 1951. DOI: 10.1104/pp.26.1.192.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (ed.). *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília, DF: **EMBRAPA-SPI**, 1994. 542 p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 46)

JORGE, B. C. S. *et al.* Grassland afforestation with *Eucalyptus* affect Collembola communities and soil functions in southern Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 32, n. 1, p. 275–295, 2023. DOI: 10.1007/s10531-022-02501-x.

KARAVIDAS, I. *et al.* Agronomic practices to increase the yield and quality of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): a systematic review. **Agronomy**, v. 12, n. 2, art. 271, 2022. DOI: 10.3390/agronomy12020271.

KOUKOL, J.; CONN, E. E. The metabolism of aromatic compounds in higher plants. IV. Purification and properties of the phenylalanine deaminase of *Hordeum vulgare*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 236, n. 10, p. 2692–2698, 1961.

LIU, L.; WANG, W.; WU, S.; GAO, H. Recent advances in the siderophore biology of *Shewanella*. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, art. 823758, 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.823758.

LIU-XU, L. *et al.* Harnessing green helpers: nitrogen-fixing bacteria and other beneficial microorganisms in plant–microbe interactions for sustainable agriculture. **Horticulturae**, v. 10, n. 6, art. 621, 2024. DOI: 10.3390/horticulturae10060621.

MAHAJAN, G. *et al.* Chitinases: key players in plant defense mechanisms against fungal pathogens. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 138, art. 102664, 2025. DOI: 10.1016/j.pmpp.2025.102664.

MANI, V.; GURUSAMY, A. K.; PERUMAL, V. Toxicological effects of mercury in radish (*Raphanus sativus*) plants–biochemical analysis. **Scholars Academic Journal of Pharmacy**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2025. DOI: 10.36347/sajp.2025.v14i01.001.

MARTINS, A. P. P.; REISSMANN, C. B. Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico-analíticos. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 1–17, 2007.

MEENA, V. S. *et al.* Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: a review. **Ecological Engineering**, v. 107, p. 8–32, 2017. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2017.06.058.

MONTEIRO, P. H. R.; WINAGRASKI, E.; ANZALONE, R. A.; DA SILVA, F. B.; AUER, C. G.; HIGA, A. R. Protocolo para crescimento de bactérias isoladas de nódulos de *Acacia mearnsii* e eficiência na solubilização de fosfato. *Acta Iguazu*, v. 7, n. 4, p. 59–70, 2018.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 170, n. 1, p. 265–270, 1999. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x.

NOGUEIRA, A. R. de A.; MACHADO, P. L. O. de A.; CARMO, C. A. F. de S. do; FERREIRA, J. R. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos: 1. coleta, acondicionamento e preparo de amostras**. São Carlos, SP: EMBRAPA-CPPSE, 1998. 72 p.

OLIVEIRA, H. A. de. **Acácia-negra e tanino no Rio Grande do Sul**. Canoas: La Salle, 1968. v. 2, 121 p.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Economia Rural (DERAL). **Boletim Conjuntural: semana 28/2026**. Curitiba: SEAB/DERAL, 9 jul. 2026. Disponível em: https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2026-07/boletim_semana_28_2026.pdf. Acesso em: 18 jul. 2026.

PEREIRA, L. B. S. *et al.* Effects of aluminium on antioxidative system in native species of the Brazilian Tropical Dry Forest (Caatinga). **Chemistry and Ecology**, v. 40, n. 4, p. 407–421, 2024.

RAHMAN, S. U. *et al.* Aluminum phytotoxicity in acidic environments: a comprehensive review of plant tolerance and adaptation strategies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 269, art. 115791, 2024. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2023.115791.

RIAZ, N.; GUERINOT, M. L. All together now: regulation of the iron deficiency response. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 6, p. 2045–2055, 2021. DOI: 10.1093/jxb/erab003.

ROSAS, J. T. F. *et al.* Geotechnologies on the phosphorus stocks determination in tropical soils: general impacts on society. **Science of The Total Environment**, v. 938, art. 173537, 2024. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.173537.

SANTORO, V.; SCHIAVON, M.; CELI, L. Role of soil abiotic processes on phosphorus availability and plant responses with a focus on strigolactones in tomato plants. **Plant and Soil**, v. 494, p. 1–49, 2024. DOI: 10.1007/s11104-023-06266-2.

SANTOS, H. G. dos *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SCHIPANSKI, M. E.; BENNETT, E. M. The phosphorus cycle. In: **Fundamentals of Ecosystem Science**. Academic Press, 2021. p. 189–213.

SCHWYN, B.; NEILANDS, J. B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, v. 160, n. 1, p. 47–56, 1987. DOI: 10.1016/0003-2697(87)90612-9.

SHAH, A. *et al.* PGPR in agriculture: a sustainable approach to increasing climate change resilience. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, art. 667546, 2021.

SHARMA, I. P.; GIRI, K.; KUMAR, N. Editorial: rhizosphere manipulation for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, art. 1378088, 2024. DOI: 10.3389/fpls.2024.1378088.

SHOBADÉ, S. O.; ZABOTINA, O. A.; NILSEN-HAMILTON, M. Plant root associated chitinases: structures and functions. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, art. 1344142, 2024. DOI: 10.3389/fpls.2024.1344142.

UYI, G. O. *et al.* Root colonization by microorganisms and the effects of PGPR on plant growth: a mini-review. **Jurnal Biota**, v. 10, n. 1, p. 34–43, 2024.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 164 p. (IBP Handbook, 15).

VON UEXKÜLL, H. R.; MUTERT, E. Global extent, development and economic impact of acid soils. **Plant and Soil**, v. 171, p. 1–15, 1995.

WANG, Q. *et al.* The utilization and roles of nitrogen in plants. **Forests**, v. 15, n. 7, art. 1191, 2024. DOI: 10.3390/f15071191.

WIRTH, S. J.; WOLF, G. A. Micro-plate colourimetric assay for endo-acting cellulase, xylanase, chitinase, 1,3- β -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, p. 511–519, 1992.

YADAV, V. *et al.* Phenylpropanoid pathway engineering: an emerging approach towards plant defense. **Pathogens**, v. 9, n. 4, art. 312, 2020.

YANG, X. *et al.* The phosphorus-iron nexus: decoding the nutrients interaction in soil and plant. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 13, art. 6992, 2024. DOI: 10.3390/ijms25136992.

YEREMKO, L. *et al.* Role of environmental factors in legume-rhizobium symbiosis: a review. **Biomolecules**, v. 15, n. 1, art. 118, 2025. DOI: 10.3390/biom15010118.

YUAN, L. *et al.* Mixed-species biofilms in the food industry: current knowledge and novel control strategies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 13, p. 2277–2293, 2020. DOI: 10.1080/10408398.2019.1632790.

ZAHRA, N. *et al.* Fe toxicity in plants: impacts and remediation. **Physiologia Plantarum**, v. 173, n. 1, p. 201–222, 2021. DOI: 10.1111/ppl.13361.

ZUCKER, M. Induction of phenylalanine deaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. **Plant Physiology**, v. 40, n. 5, p. 779–784, 1965. DOI: 10.1104/pp.40.5.779.

VOQQOSOV, Z. K.; IKROMOVA, M. Determination of acceptable dimensions of biofertilizer production. **Universum: Technical Sciences**, n. 1 (118), 2024.

7. AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação Araucária e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), e ao Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR).

8. EXPECTATIVAS FUTURAS

A identificação molecular dos isolados bacterianos por sequenciamento do gene 16S rRNA encontra-se em andamento. Adicionalmente, análises metagenômicas serão realizadas para avaliar os efeitos da inoculação sobre a estrutura e a composição da comunidade microbiana do solo, contribuindo para a compreensão das interações entre os isolados, a microbiota do solo e a planta.