

Seleção de bactérias promotoras do crescimento vegetal produtoras de enzima: Efeito na decomposição de resíduos orgânicos

Selection of enzyme-producing plant growth-promoting bacteria: Effect on decomposition of organic waste

Selección de bacterias promotoras del crecimiento vegetal productoras de enzimas: efecto en la descomposición de residuos orgânicos

Recebido: 15/02/2022 | Revisado: 22/02/2022 | Aceito: 25/02/2022 | Publicado: 07/03/2022

Thaís Cristina Franco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7244-4714>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: thais_cfranco@hotmail.com

Tayla Évellin de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5184-6549>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: taylaoliveira@hotmail.com

José Ricardo Mantovani

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9817-8143>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: jose.mantovani@unifenas.br

Ligiane Aparecida Florentino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9092-3017>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: ligiane.florentino@unifenas.br

Resumo

Objetivou-se com essa pesquisa avaliar a produção de enzimas por bactérias promotoras do crescimento vegetal e o efeito da inoculação destas bactérias na decomposição de resíduos orgânicos e solubilização de fósforo. No primeiro experimento foram analisadas a produção das enzimas amilase e celulase por oito estirpes bacterianas. Esses testes foram realizados em meio de cultura e a presença das enzimas foram averiguadas pela formação de halo. O segundo experimento foi instalado em respirômetros adaptados, contendo solo, resíduos vegetais de feijão guandú (*Cajanus cajan*), brachiaria (*Brachiaria decumbens*) e controle sem adição de resíduo e adição de fosfato natural de Bayóvar, seguido ou não da inoculação com as estirpes bacterianas. As avaliações da evolução de C-CO₂ foram realizadas semanalmente por um período de 42 dias. Após o período de avaliação do C-CO₂ evoluído, o solo das câmaras de incubação foi utilizado para análise da concentração de fósforo. Como resultado foi verificado que a UNIFENAS 100-24 se mostrou potencialmente capaz de produzir amilase e celulose. Essa estirpe promoveu maior liberação de C-CO₂, no entanto, não foi observado maior liberação de fósforo. A inoculação com a estirpe UNIFENAS 100-24 pode promover maior decomposição dos resíduos orgânicos, favorecendo a ciclagem de nutrientes e a melhoria da qualidade do solo.

Palavras-chave: Enzimas microbianas; Fosfato natural; Qualidade solo.

Abstract

The objective of this research was to evaluate the production of enzymes by bacteria that promote plant growth and the effect of inoculation of these bacteria on the decomposition of organic residues and solubilization of phosphorus. In the first experiment, the production of amylase and cellulase enzymes by eight bacterial strains were analyzed. These tests were carried out in a culture medium and the presence of enzymes was verified by halo formation. The second experiment was installed in adapted respirometers, containing soil, plant residues of pigeon pea (*Cajanus cajan*), brachiaria (*Brachiaria decumbens*) and control without addition of residue and addition of natural phosphate from Bayóvar, followed or not by inoculation with bacterial strains. Assessments of C-CO₂ evolution were performed weekly for a period of 42 days. After the evolution period of C-CO₂ evaluation, the soil of the incubation chambers was used to analyze the phosphorus concentration. As a result, it was verified that UNIFENAS 100-24 was potentially capable of producing amylase and cellulose. This strain promoted greater release of C-CO₂, however, no greater release of phosphorus was observed.

Inoculation with the UNIFENAS 100-24 strain can promote greater decomposition of organic residues, favoring nutrient cycling and improving soil quality.

Keywords: Microbial enzymes; Natural phosphate; Soil quality.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar la producción de enzimas por parte de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y el efecto de la inoculación de estas bacterias en la descomposición de residuos orgánicos y solubilización de fósforo. En el primer experimento, se analizó la producción de enzimas amilasa y celulasa por parte de ocho cepas bacterianas. Estas pruebas se realizaron en medio de cultivo y se verificó la presencia de enzimas por formación de halo. El segundo experimento se instaló en respirómetros adaptados, que contenían suelo, residuos vegetales de guandú (*Cajanus cajan*), brachiaria (*Brachiaria decumbens*) y testigo sin adición de residuo y adición de fosfato natural de Bayóvar, seguido o no de inoculación con cepas bacterianas. Las evaluaciones de la evolución de C-CO₂ se realizaron semanalmente durante un período de 42 días. Después del período de evolución de la evaluación de C-CO₂, el suelo de las cámaras de incubación se utilizó para analizar la concentración de fósforo. Como resultado, se verificó que UNIFENAS 100-24 era potencialmente capaz de producir amilasa y celulosa. Esta cepa promovió una mayor liberación de C-CO₂, sin embargo, no se observó una mayor liberación de fósforo. La inoculación con la cepa UNIFENAS 100-24 puede promover una mayor descomposición de los residuos orgánicos, favoreciendo el ciclo de nutrientes y mejorando la calidad del suelo.

Palabras clave: Enzimas microbianas; Fosfato natural; Calidad del suelo.

1. Introdução

Nas últimas décadas, verifica-se o crescente avanço tecnológico em diferentes setores, principalmente no agronegócio brasileiro, o qual contribui significativamente para o produto interno bruto (PIB) (Cunha Malafaia et al., 2021), sendo setor de destaque e prioritário na descoberta de novas tecnologias de produção e soluções inovadoras para o aumento da competitividade do setor agropecuário, a fim de promover a liderança de forma sustentável. Estudos tem demonstrado que os microrganismos apresentam características multifuncionais, sendo capazes de desenvolver diversos processos benéficos que contribuem para o desenvolvimento vegetal (Terra et al., 2019; Rezende et al., 2021; Oliveira et al., 2022).

Dentre as diversas funções executadas pelos microrganismos do solo, podemos destacar a decomposição da resíduos orgânicos, processo fundamental que contribui para a mineralização de nutrientes e formação de quelantes que complexam compostos poluentes, reduzindo seu potencial de toxicidade (Moreira & Siqueira, 2006).

Ainda sobre a decomposição de resíduos orgânicos, devemos considerar a participação de grupos microbianos específicos com enzimas endo ou extracelulares que atuam efetivamente na oxidação da matéria orgânica. Durante esse processo, ocorre a liberação de ácidos orgânicos (Pinheiro, 2012), os quais são capazes de solubilizar nutrientes adsorvidos na fração argila (Pavinato & Rosolem, 2008) ou em pó de rocha de liberação lenta (Abreu et al., 2016). Esse processo constitui-se de grande importância, visto que em solos tropicais, como no Brasil, uma fração significativa do fósforo adicionado ao solo é adsorvido na fração argila, consequentemente, aumentando a frequência de aplicação de fertilizantes fosfatados e, consequentemente, os custos de produção.

Com isso, verifica-se o interesse científico e também industrial em diversos grupos de microrganismos do solo, os quais podem potencializar o uso de rochas nacionais e também contribuir efetivamente para aumentar a disponibilidade de fósforo adsorvido na fração argila dos solos brasileiros. Nesse sentido, o estudo de técnicas de manejo que possam promover o incremento de nutrientes no solo tornam-se de grande relevância diante do cenário mundial, devido às perspectivas de aumento populacional e de produção de alimentos. Com isso, objetivou-se avaliar a produção de enzimas por bactérias promotoras do crescimento vegetal e o efeito da inoculação destas bactérias na decomposição de resíduos orgânicos e solubilização de fósforo.

2. Material e Métodos

Os experimentos foram instalados no Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade José do Rosário Vellano-UNIFENAS, em Alfenas, MG. Foram selecionadas oito estirpes bacterianas para o desenvolvimento dessa pesquisa. Essas estirpes foram isoladas do solo rizosférico de *Brachiaria brizantha* (Dias et al., 2019) e foram testadas quanto ao potencial de atuar como promotoras do crescimento vegetal, conforme dados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Identificação, meio utilizado para isolamento das bactérias e capacidade de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilizar fósforo (P), potássio (K) e produzir ácido 3-indol acético (AIA) pelas estirpes bacterianas utilizadas no estudo.

Estirpes	Meio de isolamento	Promoção de crescimento vegetal			
		FBN	Solubilização de P	Solubilização de K	Produção de AIA
UNIFENAS 100-24	JMV	-	-	-	-
UNIFENAS 100-31	FAM	X ²	X ²	-	X ²
UNIFENAS 100-50	FAM	X ²	-	X ³	X ³
UNIFENAS 100-59	JMV	-	-	-	-
UNIFENAS 100-69	LGI	X ^{1,2}	X ¹	-	X ¹
UNIFENAS 100-71	JMV	X ^{1,2}	X ¹	-	X ¹
UNIFENAS 100-72	LGI	-	-	-	-
UNIFENAS 100-74	FAM	-	-	-	X ³

¹Silva et al. (2019); ²Dias et al. (2019); ³Florentino et al. (2017). Fonte: Autores (2022).

No primeiro experimento foi avaliada produção de enzimas amilase e celulase pelas estirpes bacterianas. Para o teste de amilase, foi adotada a metodologia de Rabalho (2002), onde o meio de cultura composto de: 10g de farelo de milho esterilizado umedecido com uma solução de sais contendo 0,14% de (NH₄)₂SO₄, 0,20% de K₂HPO₄, 0,02% de MgSO₄.7H₂O e 0,10% da solução de micronutriente, pH foi ajustado 6,5 a 6,8. Nesse meio foram inoculadas 20 µL da suspensão bacteriana, na fase logarítmica de crescimento, contendo aproximadamente 10⁸ UFC mL⁻¹. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições. As placas contendo o meio de cultura inoculado com as suspensões bacterianas foram incubadas em estufa à 28°C. Após 48h, foi adicionada solução de iodo (0,5%) nas placas visando observar a formação do halo claro ao redor do ponto onde foi inoculada a estirpe bacteriana, caracterizando assim a produção de amilase. O diâmetro do halo foi medido com o auxílio de um paquímetro.

No teste de celulase, 140 µL de suspensão bacteriana, na fase logarítmica de crescimento, foram inoculadas em placas contendo meio sólido carboximetilcelulose (CMC) como fonte de carbono, seguindo a metodologia descrita por Santos et al. (2010). O experimento foi realizado em DIC com quatro repetições. As placas foram incubadas a 28°C e após 48 h, foram coradas com uma solução de Vermelho do Congo 1% por 10 minutos e descoradas com a solução de NaCl 0,5% para aumentar o contraste do halo, indicando sua atividade enzimática. Os diâmetros dos halos foram medidos com o auxílio de um paquímetro.

As estirpes bacterianas produtoras de enzimas amilase e celulase foram selecionadas para o segundo experimento, visando avaliar a influência da decomposição da matéria orgânica na liberação de fósforo no solo. Para isso, foi selecionado um solo de textura argilosa, coletado na camada de 0-20 cm, apresentando a seguinte caracterização química (Embrapa, 2017): pH (CaCl₂) = 5,3; P (mg dm⁻³) = 11; K (mg dm⁻³) = 0,56; Ca⁺² (cmol_c dm⁻³) = 2,1; Mg⁺² (cmol_c dm⁻³) = 1,0; Al⁺³ (cmol_c dm⁻³) = 0; H+Al (cmol_c dm⁻³) = 3,4; SB (cmol_c dm⁻³) = 3,6; t (cmol_c dm⁻³) = 3,6; T (cmol_c dm⁻³) = 7,0; V (%) = 52; m (%) = 0; M.O. (g dm⁻³) = 21.

Foram utilizados resíduos vegetais de feijão guandú (*Cajanus cajan*) e brachiaria (*Brachiaria decumbens*), cultivadas no campo agrostológico do setor de Ciências Agrárias da UNIFENAS. Para o experimento, foram coletadas a parte aérea no momento

do florescimento. O material vegetal foi seco em estufa com circulação forçada de ar a 70°C, durante 72 horas, moídos, passados por peneira de 2 mm e uma parte das amostras foram enviadas para análises de caracterização bromatológica (Tabela 2).

Tabela 2. Valores de fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) do resíduo vegetal utilizado no experimento.

Material vegetal	FDN (%)	FDA
<i>Brachiaria decumbes</i>	60.43	30.89
<i>Cajanus cajan</i>	57.76	42.13

FDA = fibra em detergente ácido; FDN = fibra em detergente neutro. Fonte: Autores (2022).

Para instalação do experimento, foram preparadas câmaras de incubação, conforme descrito em Monteiro et al. (2002), em que a decomposição dos resíduos vegetais foi avaliada pela liberação de CO₂. Foram utilizados 400 cm³ de solo, contendo 8 g de resíduo vegetal, inoculados com 4 mL de suspensão bacteriana e a umidade será mantida a 80% da capacidade de campo. Foi adicionado também 0,110 g de fosfato natural de Bayóvar, onde a quantidade foi determinada de acordo com a análise química do solo.

O delineamento estatístico foi o DIC, em esquema fatorial 3 (dois resíduos vegetais e o tratamento controle sem resíduo vegetal) x 3 (utilização de forma isolada das duas estirpes bacterianas produtoras de enzimas e um tratamento controle, sem inoculação) e quatro repetições.

Nas câmaras de incubação foram inseridos frascos contendo 20 mL de NaOH 0,25 mol L⁻¹. As avaliações da evolução de C-CO₂ foram realizadas por um período de 42 dias, sendo que semanalmente será realizada a mensuração, retirando-se uma alíquota da solução de NaOH de cada câmara de incubação, na qual será adicionada 10 mL de BaCl₂ 0,025 mol L⁻¹, seguidas de 3 gotas de uma solução alcoólica de fenolftaleína 1% como indicador e titulação com HCl 0,1 mol L⁻¹ até a solução virar de violeta para incolor. Após cada avaliação da evolução de C-CO₂ foram inseridos frascos adicionais contendo 100 mL de NaOH 0,25 mol L⁻¹ nas câmaras de incubação. A quantidade de C-CO₂ evoluído foi calculado pela equação, citada em Moreira e Siqueira (2006):

$$CO_2 \left(\frac{mg}{kg} \text{ solo seco} \right) = [(V_o - V) \times 1,1 \times 1000] / PSS$$

Onde: V_o = volume de HCl utilizado para titular o branco, em mL; V = volume de HCl utilizado para titular a amostra, em mL; 1,1 = fator de conversão (1 mL NaOH 0,05M = 1,1 mg de CO₂); 1000 = para ter resultados em kg de solo seco; PSS = peso do solo seco.

O C-CO₂ evoluído acumulado foi expresso em termos absolutos (mg C-CO₂) e em relação à quantidade de carbono adicionado (mg dm⁻³ C-CO₂). Após o período de avaliação do C-CO₂ evoluído, o solo das câmaras de incubação foi utilizado para análise da concentração de fósforo e valor de pH. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias das quatro repetições foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2014).

3. Resultado e Discussão

Das estirpes bacterianas avaliadas quanto à produção de amilase e celulase, observou-se que a estirpe UNIFENAS 100-24 apresentou uma melhor capacidade na degradação, formando halo no meio para produção de amilase e celulase. Resultados

semelhantes foram encontrados na literatura (Santos et al., 2010 e Rocha, 2010), indicando que microrganismos constituem uma fonte de produção dessas enzimas, podendo contribuir efetivamente com a decomposição de resíduos orgânicos e com a qualidade do solo.

Analisando os resultados, observa-se que a inoculação da estirpe UNIFENAS 100-24, contribuiu para a maior liberação de C-CO₂, o que pode ser associado a produção das enzimas celulase e amilase, contribuindo para maior taxa de decomposição dos resíduos, em comparação com a estirpe UNIFENAS 100-59 e o controle sem inoculação (Tabela 3).

Tabela 3. Acúmulo de CO₂ nas amostras de solo contendo diferentes plantas de cobertura e diferentes estirpes bacteriana*

Material vegetal	C-CO ₂ (mg kg ⁻¹ de solo seco)		
	UNIFENAS 100-24	UNIFENAS 100-59	Sem inoculação
<i>Brachiaria decumbes</i>	105.06 Ba	34.18 Bb	33.49 Ab
<i>Cajanus cajan</i>	339.35 Aa	214.13 Ab	30.26 Ac
Sem resíduo	46.63 Ca	48.77 Ba	25.62 Ab

*Médias seguidas de letras iguais, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. Fonte: Autores (2022).

Analisando a Tabela 3, observa-se que os tratamentos contendo feijão guandu (*Cajanus cajan*) apresentaram maior taxa de decomposição, o que pode ser explicado pelo fato desta espécie pertencer à família das leguminosas, possuindo menor relação C/N, possui maior taxa de decomposição e mineralização e, conseqüentemente, maior liberação de nutrientes para as plantas (Santos & Meurer, 2018). Já as gramíneas ou poáceas como a *Brachiaria*, possui maior persistência no solo (Marangoni et al., 2017), sendo também característica desejável à qualidade do solo.

Analisando a concentração de fósforo no solo após o tempo de avaliação da liberação de C-CO₂, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Concentrações de fósforo (mg dm⁻³) e pH do solo adubado com fosfato natural de Bayovar após 42 dias de incubação.

Material vegetal	Disponibilidade de fósforo	pH
	(mg/dm ³)	
<i>Brachiaria decumbes</i>	33.83	5.68
<i>Cajanus cajan</i>	27.67	5.77
Sem resíduo	23.50	5.27

Fonte: Autores (2022).

Deve-se considerar que o experimento foi avaliado por um período de 42 dias e que pode ocorrer maior incremento de P disponível no solo ao longo do tempo, necessitando, portanto, de pesquisas posteriores visando identificar a influência da inoculação microbiana e adição de resíduos vegetais em solos adubados com fosfato natural por períodos de tempo maiores no solo, o que pode ter relevância, principalmente para culturas perenes. Admite-se em curto prazo, que os fosfatos de baixa solubilidade apresentam menor eficiência em relação aos fosfatos solúveis em água. No entanto, em longo prazo, o seu efeito residual é geralmente maior (Guedes et al., 2009).

Esses resultados podem ser devido à atuação dos ácidos orgânicos liberados durante o processo de decomposição aliado à atuação dos microrganismos do solo (Pavinato & Rosolem, 2008), viabilizando o uso das rochas nacionais, apresentando, portanto,

relevância do ponto de vista econômico e ambiental. Destaca-se também que resultados encontrados por Silva & Raij (1999), ao avaliarem a disponibilidade de fósforo em solos por diferentes extratores, onde obtiveram melhores relações de produção quando utilizaram o método da resina de troca iônica, o que pode ter relação no fato de não ter resultado na interação e inoculação.

A solubilização de fosfato por microrganismos está relacionada à capacidade destes em produzir ácidos orgânicos, os quais contribuem para o rompimento de ligações químicas entre os elementos, aumentando a liberação do nutriente (Silva Filho & Vidor, 2000). Segundo Barroso e Nahas (2008), a fonte de carbono pode influenciar na produção de ácidos orgânicos e, conseqüentemente, na eficiência do processo. Com isso, verifica-se a necessidade de estudos visando selecionar microrganismos de acordo com as condições de cultivo visando maior eficiência (Moreira & Siqueira, 2006).

Bolívar-Anillo et al (2016), relatam sobre o potencial do uso de microrganismos promotores do crescimento vegetal na agricultura por atuarem em diversos processos, como fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato, inibição de fitopatógenos, produção de exopolissacarídeos e de sideróforos. Para pesquisas posteriores, sugere-se avaliar a solubilização de fósforo no solo associada a adição de resíduos vegetais e inoculação de estirpes bacterianas por um período maior, visando assim identificar a real contribuição dos fatores envolvidos nesse processo, favorecendo assim o desenvolvimento de tecnologias para aplicação no campo.

4. Conclusão

A estirpe UNIFENAS 100-24 produz enzimas amilase e celulase, as quais aumentam a decomposição de resíduos orgânicos no solo.

Estudos posteriores devem ser realizados visando avaliar o desempenho desta estirpe no campo, na presença e ausência de resíduos orgânicos, e por um período maior de tempo.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq e FAPEMIG.

Referências

- Abreu, C. S., Gomes, E. A., Oliveira, C. A., Figueiredo, J. E. F., Santos, V. L. & Marriel, I. E. (2016). *Produção de ácidos orgânicos por bactérias endofíticas de milho solubilizadoras de fosfato*. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo – Milho e Sorgo: Inovações, mercados e segurança alimentar. Embrapa. Anais, p. 1-4.
- Barroso, C. B. & Nahas, E. (2008); Solubilização do fosfato de ferro em meio de cultura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43 (4), 529-535.
- Bolívar-Anillo, H. J., Contreras-Zentella, M. L. & Tehéran-Sierra, L. G. (2016). *Burkholderia tropica* una bacteria con gran potencial para uso en la agricultura. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 19 (2), 102-108.
- Cunha Malafaia, G., Frainer, D. M., Casagrande, Y. G. & Azevedo, D. B. (2021). The Measurement of the Gross Domestic Product of the Agribusiness Agro-Industrial Complex of Goiás. *Research, Society and Development*, 10 (5), e9510514668.
- Dias, M. S., Florentino, L. A., Rabêlo, F. H. S., Rezende, A. V., Souza, F. R. C. & Borgo, L. (2019). Características morfológicas, produtivas e bromatológicas do capim-xaraés: adubação nitrogenada em cobertura versus inoculação com bactérias diazotróficas. *Ciência Animal Brasileira*, 20 (1), 1-12.
- Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária -EMBRAPA. (2017). Manual de métodos de análise de solos. 3. ed. rev. Embrapa Solos: Rio de Janeiro. 577 p.
- Ferreira, D. F. (2014). Sisvar: A computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35(6), 1039-1042.
- Florentino, L. A., Silva, A. B., Landgraf, P. R. C. & Souza, F. R. C. (2017). Inoculação de bactérias produtoras de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). *Revista Colombiana de Ciência Hortícolas*, 11 (1), 89-96.
- Guedes, E. M. S., Fernandes, A. R., Lima, E. V., Gama, M. A. P. & Silva, A. L. P. (2009). Fosfato natural de arad e calagem e o crescimento da Brachiária brizantha em Latossolo amarelo sob pastagem degradada na Amazônia. *Revista de Ciências Agrárias*, 1 (52), 117-129.

- Marangoni, R. E., Araújo, L. S., Valente, M. S., Silva, L. G. B., Silveira, P. M. & Cunha, P. C. R. (2017). Produção de fitomassa seca de guandu-anão e milho e a decomposição das palhadas sob cultivo do feijoeiro. *Revista Agro@ambiente*, 11 (2), 119-127.
- Monteiro, H. C. F., Cantarutti, R. B., Nascimento Júnior, D., Regazzi, A. J. & Fonseca, D. M. (2002). Dinâmica de decomposição e mineralização de nitrogênio em função da qualidade de resíduos de gramíneas e leguminosas rorrageiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31 (3), 1092-1102.
- Moreira, F. M. S.; Siqueira, J. O. (2006). *Microbiologia e bioquímica do solo*. (2a ed.), Universidade Federal de Lavras 729 p.
- Oliveira, H. B., Rocha, E., Teles, T. & Florentino, L. A. (2022). Microbial Activity in the Agricultural and Forestry System. *Research, Society and Development*, 11 (2), e56211226184.
- Pavinato, P. S. & Rosolem, C. A. (2008). Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32 (3), 911-920.
- Pinheiro, G. L. (2012). *Ácidos orgânicos e carbono solúvel em solos e resíduos*. Tese (Doutorado) - Pós-graduação em Ciência do solo, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 99 p.
- Rabalho, A. A. (2002). *Isolamento de linhagens microbianas termofílicas amilolíticas, produção, caracterização e aplicação das amilases na hidrólise do amido de mandioca*. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 161 p.
- Rezende, C. C., Silva, M. A., Frasca, L. L. M., Faria, D. R., Filippi, M. C. C., Lanna, A. C. & Nascente, A. S. (2021). Multifunctional microorganisms: use in agriculture. *Research, Society and Development*, 10 (2), e50810212725.
- Rocha, C. P. (2010). *Otimização da produção de enzimas por Aspergillus Níger em fermentação em estado sólido*. [Tese]. Universidade Federal de Uberlândia. 161 p.
- Santos, F. H. R., Silva, B. M., Vicente, M. S., Reis, V. M. & Soares, L. H. B. (2010). *Isolamento de bactérias com habilidade hidrolítica da biomassa em sistemas de compostagem*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 70, 19 p.
- Santos, B. S. A. & Meurer, N. V. F. (2018). Liberação de NPK por leguminosas e gramíneas – Análise comparativa. *Revista Pensar*, 4 (1), 20-29.
- Silva, F. C. & Rajj, B. V. (1999). Disponibilidade de fósforo em solos avaliada por diferentes extratores. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34 (2), 267-288.
- Silva Filho, G. N. & Vidor, C. (2000). Solubilização de fostatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 24 (1), 311-319.
- Silva, K. P., Silva, G. O. A., Oliveira, T. E., Rezende, A. V. & Florentino, L. A. (2019). Promoção de crescimento de capim Mombaça por bactérias diazotróficas. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 49, e56732.
- Terra, A. B. C., Souza, F. R. C., Mantovani, J. R., Rezende, A. V. & Florentino, L. A. (2019). Physiological characterization of diazotrophic bacteria isolated from *Brachiaria brizantha* rhizosphere. *Revista Caatinga*, 32 (3), 658-666.