

BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EM SOLO RIZOSFÉRICO DA
CAATINGA

**BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EM SOLO RIZOSFÉRICO
DA CAATINGA**

R. M. M. Carvalho¹; M. R. da Silva²; F. C. T. de Carvalho³; R. H. Rebouças⁴; O. V. de Sousa⁵

¹Instituto de Ciências do Mar/UFC/rubsonmateus@yahoo.com.br

²Instituto de Ciências do Mar/UFC/marcelo.reboucas2@gmail.com

³Instituto de Ciências do Mar/UFC/fctcarvalho@yahoo.com.br

⁴Instituto de Ciências do Mar/UFC/rosareboucas@gmail.com

⁵ Instituto de Ciências do Mar/UFC/oscarinavs@ufc.br

RESUMO

A relação ecológica existente entre plantas e micro-organismos é bastante conhecida, no entanto, o potencial biotecnológico dos micro-organismos habitantes do solo de regiões semiáridas ainda é sub-explorado. Dessa forma, objetivo desta pesquisa foi quantificar e isolar bactérias solubilizadoras de fosfatos (CaHPO₄), contidas nas raízes de uma cactácea do gênero *Cereus*, coletadas no bioma da Caatinga (município de Irauçuba, estado do Ceará). Para isso, foram quantificadas bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC) e bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) através do método de contagem padrão em placas (CPP), utilizando ágar padrão de contagem (PCA) e ágar GL, respectivamente. Foram realizados testes de coloração de Gram, catalase, O/F para glicose e agregação para caracterização fenotípica das cepas isoladas. As contagens de BHC e BSF apresentaram valores de $4,62 \times 10^7$ UFC/g e $3,475 \times 10^7$ UFC/g, respectivamente. Um percentual de 75% da população de BSF compôs a microbiota total encontrada nas raízes das amostras de *Cereus*. Foi possível observar que 73% dos isolados apresentaram morfologia de bastonetes Gram-negativos, 18% de bastonetes Gram-positivos e 9% de cocos Gram-positivos. A maioria dos isolados (91%) apresentou metabolismo oxidativo e fermentativo (O/F) para glicose e presença da enzima catalase, enquanto a capacidade de agregação em vidro foi observada em todas as cepas testadas. Portanto, novas pesquisas devem ser incentivadas, a fim de ampliar os conhecimentos sobre o potencial biotecnológico de bactérias do solo da caatinga e que forneçam subsídios ao desenvolvimento de estratégias para o melhoramento da eficiência da fertilização e desenvolvimento vegetal.

Palavras chave: bioprospecção, biotecnologia, semiárido, microbioma, cactácea.

ABSTRACT

The ecological relationship between plants and microorganisms is well known, however the biotechnological potential of microorganisms from semiarid soils is still underexploited. Thus, the aim of this study was to quantify and identify phosphate-solubilizing bacteria (CaHPO₄), contained onto cactus roots of genus *Cereus*, collected

from Caatinga biome (city of Irauçuba, state of Ceará). To achieve this goal, it was quantified Cultivable Heterotrophic Bacteria (CHB) and Phosphate-solubilizing Bacteria (PSB) by standard plate count method (SPC), utilizing plate count agar (PCA) and GL agar, respectively. Also, it was performed Gram staining testing, catalase, O/F to glucose and aggregation to phenotypic characterization of isolated strains. The CHB and PSB presented values of $4,62 \times 10^7$ CFU/g and $3,475 \times 10^7$ CFU/g, respectively. A percentage of 75% of the PSB population comprises the full microbiota found on the root samples of *Cereus*. It was observed that 73% of strains had morphology of Gram-negative rods, 18% of Gram-positive rods and 9% of gram-positive cocci. The most strains (91%) showed oxidative/fermentation metabolism to glucose (O/F) and presence of catalase enzyme, while glass aggregation ability was observed in all tested strains. Therefore, new researches should be encouraged in order to increase knowledge of biotechnological potential of bacteria from caatinga's soil and provide subsidies to develop strategies for the improvement of fertilization efficiency and plant development.

Keywords: bioprospecting, biotechnology, semiarid, microbiome, cactus.

INTRODUÇÃO

Os microrganismos compõem a base dos processos biológicos do solo, onde ocorre o crescimento microbiano e as transformações orgânicas e inorgânicas por eles mediados (SILVA *et al.*, 2011). O fósforo é o segundo elemento mais importante para as plantas, sendo nutriente essencial para o cumprimento de diversos processos metabólicos (KHAN *et al.*, 2010).

No entanto, o solo brasileiro possui uma deficiência de fósforo solúvel que é devida a sua baixa mobilidade e fácil compatibilidade com outros minerais tais como ferro e alumínio tornando-se indisponível para as plantas (HOLANDA *et al.*, 1995).

Existem microrganismos que disponibilizam o fosfato até então insolúvel às plantas e em troca as plantas, por meio de suas raízes disponibilizam ricas fontes de carbono, em especial açúcares e ácidos orgânicos, fundamentais para o crescimento bacteriano (KHAN *et al.*, 2010). Essa interação microrganismo-planta acontece em um microbioma denominado rizosfera.

O aproveitamento do fosfato pelas plantas pode ser maximizado pela atuação dos microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) contribuindo para o crescimento vegetal. O uso comercial de fertilizantes enriquecidos com MSF tem papel auxiliar no melhor aproveitamento do fosfato presente no solo (SILVA FILHO & VIDOR, 2001; OTEINO *et al.*, 2015).

A região semiárida brasileira é caracterizada pelas altas temperaturas, forte incidência de luz solar, sazonalidade de chuvas e solos salinos, o que corrobora com o importante potencial biotecnológico dessas bactérias como inoculante do solo auxiliando na disponibilização de fósforo para plantas (DUAN & FENG, 2010; SOARES JR., 2012).

Ocupando 11% do território nacional e 70% da região semiárida, a Caatinga é composta por uma vegetação caracterizada pelo pequeno porte, arbustiva e ervas, caducifólia, xerofolia, sendo constantemente subestimada quanto a sua riqueza e diversidade vegetal. São características dessa região, os altos níveis de insolação e temperatura, além de escassos recursos hídricos e chuvas irregulares, não sendo raros, períodos longos de estiagem (GORLACH-LIRA & COUTINHO, 2007; GONÇALVES, 2011).

Calcula-se que a vegetação nativa da Caatinga cobre cerca de 40% da área original no semiárido nordestino resultado da pressão antrópica na área. No restante da área, essa vegetação foi retirada principalmente para uso na prática agrícola, pecuária extensiva e extração de lenha para fins energéticos (GARIGLIO *et al.*, 2010).

Sendo um ambiente de condições extremas os organismos apresentam adaptações próprias que devem ser estudadas e entendidas. Assim, o objetivo principal desse trabalho foi conhecer quantitativa e qualitativamente bactérias com capacidade de solubilizar fósforo e que mantém inter-relação ecológica positiva com cactáceas do gênero *Cereus* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área

A área em estudo localiza-se no município de Irauçuba, Ceará (93° 42' 16.100"O; 4° 6' 29.853"S) (Figura 1) em região de clima tropical quente semiárido, com pluviosidade média anual de 539,5 mm; as temperaturas médias anuais situam-se entre 26° a 28°C. A cobertura vegetal é do tipo caatinga arbustiva aberta, compostos por solos do tipo Bruno não Cálcico, Solos Litólicos, Planossolo Solódico e Podzólico Vermelho-Amarelo (IPECE, 2014). O ressecamento no período seco e o ligeiro excesso de umidade no curto período chuvoso impõem condições físicas desfavoráveis à penetração de raízes, além do caráter pedregoso e a susceptibilidade à erosão,

representam as limitações mais acentuadas para a utilização destes solos para atividades agropecuárias (LUSTOSA, 2004).

O município encontra-se em elevado processo de desertificação, onde segundo Barbosa *et al.* (2005), a desertificação é acelerada pela ação do homem, através da utilização de práticas inadequadas, trazendo consequências danosas para a terra e para quem dela tira o sustento.

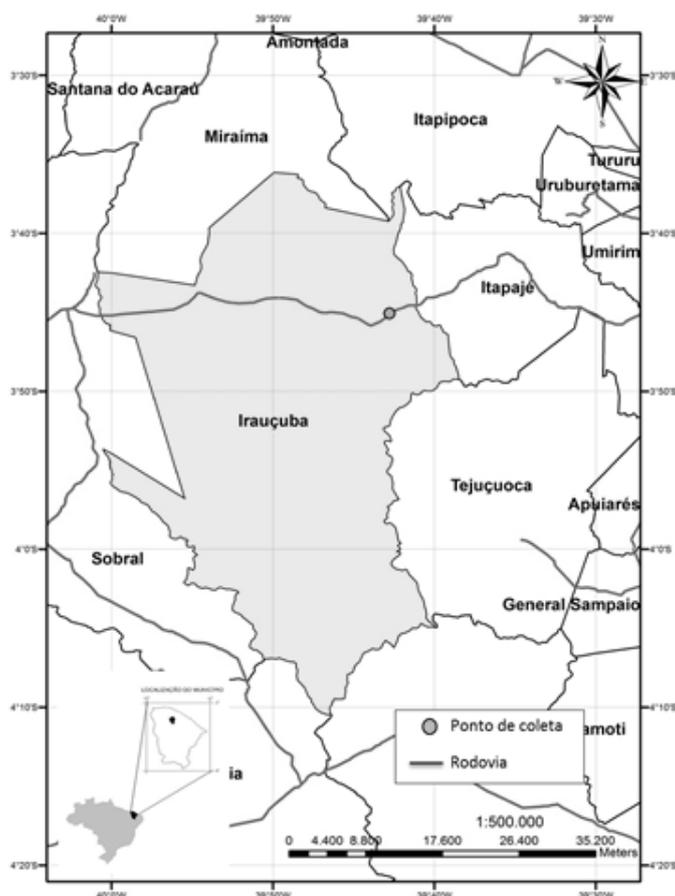


Figura 1 – Mapa da área do estudo. Fonte: os autores.

Coleta e processamento das amostras

Amostras de raízes do cacto *Cereus* sp. foram coletadas em ambiente natural no mês de abril, no município de Irauçuba, Ceará. Ressalta-se que a área escolhida para realização da coleta encontrava-se em estágio de recuperação devido à atividade de pastoreio e desmatamento. As amostras foram armazenadas a temperatura ambiente e transportadas até o Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado – Lamap/UFC, onde foram processadas. As etapas do processamento são descritas abaixo.

Quantificação e Isolamento das Bactérias Heterotróficas Cultiváveis (BHC)

A quantificação das BHCs foi feita pelo método de Contagem Padrão em Placas (CPP) onde dez gramas (10g) das raízes da cactácea foram homogeneizadas, sob agitação, com 90 mL de solução salina a 0,85%, a partir dessa etapa foram feitas diluições seriadas até a diluição 10^{-5} . Alíquotas das diluições foram inoculadas em placas de Petri, em duplicata, e cobertas com o meio de cultura Agar nutriente (técnica de *Pour Plate*), incubadas em estufa a 35°C por 48h (DOWNS & ITO, 2001). Após período de incubação, as placas com número de colônias entre 25 e 250 foram contadas e os resultados expressos em unidades formadoras de colônias por grama de rizosfera. Colônias foram selecionadas sobre o meio de cultura, pescadas e inoculadas em novo meio (Agar TSA) para isolamento e purificação.

Quantificação e Isolamento das Bactérias Solubilizadoras de Fosfato (BSF)

A quantificação das BSF foi feita a partir de inóculos das diluições seriadas (descrito no item anterior) em meio de cultura seletivo GL (glicose, 10g; extrato de levedura, 0,5g e agar, 15g L⁻¹) (SYLVESTER-BRADLEY *et al.*, 1982) com adição de K₂HPO₄ (10%) e de CaCl₂ (10%). A técnica de inoculação das amostras diluídas foi *Spread Plate*. As amostras foram incubadas a 35 °C por 72 horas. Foram contadas as colônias crescidas formando halos transparentes ao redor, indicando a solubilização do fosfato disponível. Foram isoladas colônias para posterior caracterização.

Provas para caracterização fenotípica

As estirpes isoladas e purificadas foram caracterizadas fenotipicamente através de teste morfotintorial (coloração de Gram), provas bioquímicas [catalase, metabolismo oxidativo/fermentativo (OF)] e capacidade (teste de agregação) (SOARES *et al.*, 1991; CHISTENSEN *et al.*, 1985).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A densidade populacional das BHC associadas à raiz da cactácea do gênero *Cereus* sp. foi de $4,62 \times 10^7$ UFC/g e a densidade populacional de BSF foi de $3,475 \times 10^7$ UFC/g. A relação BHC/BSF observada foi próxima a 75% (Tabela 1). Significa que inseridas no universo da população bacteriana mesófila encontra-se uma importante parcela de microrganismos com capacidade específica de solubilizar fostato.

Tabela 1– Densidade de bactérias solubilizadoras de fosfatos e BHC isoladas de solo rizosférico de cactácea da caatinga.

Meios de Cultura	Nº x 10 ⁷ UFC/g ⁻¹	Porcentagem
Bactérias Solubilizadoras de Fosfato	3,47	75,1%
Bactérias Heterotróficas Cultiváveis	4,62	24,9%

A densidade de bactérias solubilizadoras de fosfato encontradas na raiz de uma cactácea do gênero *Cereus* sp. mostrou-se superior a densidades encontradas em sedimento de água doce, como descrito no estudo de Maitra *et al.* (2015). Sendo superior também no que foi apresentado em estudos com a gramínea *Brachiaria ruziziensis* e a leguminosa *Cajanus cajan* (L.) Millsp. antes e após calagem do solo, segundo Barroti & Nahas (2000). No estado do Ceará, Lima *et al.* (2014) verificando a presença de BSF em solo da caatinga em área conservada e em vegetação de carrasco, registraram densidades de $2,5 \times 10^3$ UFC/g⁻¹ e $1,0 \times 10^5$ UFC/g⁻¹, respectivamente.

O fosfato no solo da caatinga encontra-se na sua forma inorgânica, ou seja, não acessível as plantas. A importância da presença das bactérias solubilizadoras de fosfato no solo está diretamente relacionada com a disponibilização do nutriente na sua forma orgânica que é assimilável por vegetais.

Nas colônias crescidas em meio GL destacam-se aquelas com características distintas, com presença de halo indicando a solubilização do precipitado de CaHPO₄ contido no meio (Figura 2) (SOUCHIE & ABBOUD, 2007).



Figura 2 – Presença do halo de solubilização de P ao redor de colônia crescida em ágar GL.

Fonte: Os autores.

De acordo com Di Simine *et al.* (1998), é possível observar a presença de bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico pela formação de um halo de solubilização transparente em torno da colônia em contraste com o meio opaco resultante do consumo do fosfato adicionado ao meio de cultura.

Os resultados dos testes de caracterização fenotípica estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 - Características fenotípicas das estirpes isoladas da raiz da planta *Cereus* sp.

Estirpe	Morfologia/Gram	Via metabólica		Enzima Catalase	Agregação
		Oxidativa	Fermentativa		
C-BHC 1	Bastonete/Gram-negativo	+	+	+	Forte
C-BHC 2	Bastonete/Gram-negativo	+	+	+	Forte
C-BHC 3	Bastonete/Gram-negativo	+	+	+	Fraca
C-BHC 4	Bastonete/Gram-negativo	+	+	+	Forte
C-BHC 5	Bastonete/Gram-negativo	+	+	+	Forte
C-BHC 6	Bastonete/Gram-negativo	+	+	+	Forte
F-BSF 1	Bastonete/Gram-positivo	+	+	+	Forte
F-BSF 2	Bastonete/Gram-positivo	-	-	+	Forte
F-BSF 3	Cocos/Gram-positivo	+	+	+	Forte
F-BSF 4	Bastonete/Gram-negativo	+	+	+	Forte

F-BSF 5	Bastonete/Gram-negativo	+	+	+	Forte
---------	-------------------------	---	---	---	-------

BHC: bactéria heterotrófica cultivável; BSF: bactéria solubilizadora de fosfato; +: resultado positivo; -: resultado negativo.

A coloração de Gram é amplamente utilizada para verificar a morfologia e a pureza dos isolados. As bactérias heterotróficas cultiváveis apresentaram morfologia de bastonete curto Gram-negativa. As bactérias isoladas do meio específico para solubilizadoras de fosfato apresentaram morfologia de bastonetes e cocos Gram-negativos e bastonetes Gram-positivos com formação de esporos. A formação de esporos permite a esses organismos resistir a solos secos por longos períodos (CHEN & ALEXANDER, 1973).

Os isolados foram testados quanto à sua capacidade de adaptação à presença de oxigênio no ambiente, sendo que todas responderam positivamente para a quebra do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Outra característica testada para os isolados do solo rizosférico da raiz da cactácea foi à capacidade de aderência à superfície por meio do teste de agregação em vidro. Os resultados foram classificados em forte, médio e fraco. Apenas uma cepa apresentou resultado fraco no teste.

A capacidade de formar exopolissacarídeos também está ligada a capacidade adaptativa dessas células a sobreviverem em ambiente de baixa umidade e resistir a essas condições. Além disso, essas bactérias auxiliam na sobrevivência da planta, reduzindo o estresse hídrico (NOCKER *et al.*, 2012; ROPER *et al.*, 2007).

É característico da região semiárida brasileira, longos períodos de estiagem, alta insolação e temperaturas, solos e águas salobras. Essas condições naturais extremas favorecem o desenvolvimento de organismos com adaptações específicas para sobreviver. Desta forma, o potencial biotecnológico das BSF deve ser explorado quanto a sua capacidade inoculante. Devido a escassez de informações mais precisas sobre essa população bacteriana, são necessários estudos mais aprofundados com relação à identificação das espécies, sua forma de ação (isolada ou em consórcio) e aplicabilidade ambiental e comercial.

O estudo sobre o potencial biotecnológico das BSF é de grande importância por conta da utilização acentuada de fertilizantes fosfatados em nosso país. Essas bactérias podem nos possibilitar uma alternativa ao aproveitamento das substâncias inorgânicas, por meio de uma disponibilização natural do nutriente ao ambiente.

O Brasil é o quarto maior consumidor de fertilizantes no mundo, o que dá uma idéia da dependência da agricultura nacional por esses compostos, chegando ao ponto da produção nacional não suprir a demanda, e a expectativa é de aumento do consumo para os próximos anos, o que corrobora a necessidade em desenvolver inóculos bacterianos capazes de disponibilizar nutrientes contidos no próprio solo (ANDA, 2016).

CONCLUSÕES

Foi possível quantificar e isolar bactérias associadas à raiz do cacto *Cereus* sp. A relação entre as comunidades de bactérias BHC e BSF foi superior a 75% revelando sua larga disposição e densidade no solo.

A maioria das estirpes isoladas (62%) apresentam característica de parede celular Gram negativas. A via metabólica demonstra característica de oxidação e fermentação para a maioria dos isolados. A presença da enzima catalase e a habilidade de agregação em vidro foram observadas, demonstrando a capacidade de resistência à condições extremas.

A relação simbiótica dos microrganismos com as plantas auxilia na disponibilização de nutrientes para o desenvolvimento vegetal. As BSF disponibilizam fósforo solúvel e as plantas proporcionam um ambiente favorável, rico em nutrientes, liberando aminoácidos, carboidratos, entre outros compostos, além de proporcionar uma maior extensão da área de absorção por meio de suas raízes.

Estirpes bacterianas adaptadas à vida em regiões de clima semiárido devem ser estudadas para avaliação do seu potencial biotecnológico como inoculantes de solo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos em especial a Professora Dr^a Oscarina de Sousa Viana, a Dr^a Fátima Cristiane de Carvalho, Professora Msc Rosa Rebouças e a toda equipe do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado – LAMAP do Instituto de Ciências do Mar/UFC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDA – Associação Nacional para a Difusão De Adubos. Disponível em: <<http://www.anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00&ver=por>>. Acesso em 23 de março de 2016.

BARBOSA, M. P.; FERNANDES, M. F.; SILVA, M. J. da; GUIMARÃES, C. L.; COSTA, I. C. da. **Diagnóstico socioeconômico ambiental da APA Chapada do Araripe**: Ceará, Pernambuco e Piauí. Relatório final. ATECEL, Campina Grande. 127-324 p. 2005.

BARROTI, G.; NAHAS, E. População microbiana total e solubilizadora de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 35, 2000, p. 2043-2050.

CHEN, M.; ALEXANDER, M. Survival of soil bacteria during prolonged desiccation. **Soil Biology and Biochemistry**, vol. 5, p. 213-221. 1973.

CHRISTENSEN, G.D.; SIMPSON, W. A.; YOUNGER, J. J.; 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, p.996–1006, 1985.

DI SIMINE, C.D.; SAYER, J.A.; GADD, G.M. Solubilization of zinc phosphate by a strain of *Pseudomonas fluorescens* isolated from a forest soil. **Biology and Fertility of Soils**, p.87-94, 1998.

DOWNES. M. P.; ITO. K.; Compendium of methods for the microbiological examination of foods. **American Public Health Association** (APHA). p. 69-89, 2001.

DUAN, C. J.; FENG, J. X. Mining metagenomes for novel cellulase genes. **Biotechnology Letters**, p. 1765-1775, 2010.

GARIGLIO, M. A.; SAMPAIO, E. V. S. B.; CESTARO, L. A.; KAGEYAMA, P. Y. **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da caatinga**. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, p. 367, 2010.

GONÇALVES, G. S. **Estratégias de controle de invasão biológica por *Prosopis juliflora*, na Caatinga e ecossistemas associados**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias. Paraíba, 2011.

GORLACH-LIRA, K.; COUTINHO, H. D. M. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semi-arid soil of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 135-141, 18 jan. 2007.

HOLANDA, J. S. de; BRASIL, E. C.; SALVIANO, A. A. C.; CARVALHO, M. C. S.; RODRIGUES, M. R. L.; MALAVOLTA, E. Eficiência de extratores de fósforo para um solo adubado com fosfatos e cultivado com arroz. **Scientia Agricola (Piracicaba, Braz.)**.1995. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161995000300025> Acesso em: 6 abr. 2015.

IPECE – Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará (IPECE). **Perfil básico Municipal (Irauçuba)**. IPECE, 2014.

LIMA, J. V. L.; PINHEIRO, M. S.; FIÚZA, L. M. C. G.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Populações microbianas cultiváveis do solo e serrapilheira de uma unidade de conservação no semiárido brasileiro. **Enciclopédia Biosfera**. p. 2330-2316, 1 jul. 2014.

LUSTOSA, J. P. G. **Caracterização Morfológica, Micromorfológica e Mineralógica de três Topossequências do Município de Irauçuba-CE e suas Relações com o processo de Desertificação**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista. Rio Claro: São Paulo, 2004.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; AHMED, M.; OVES, M.; WANI, P. A. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective. **Archives of Agronomy and Soil Science**, p. 73–98, 2010.

MAITRA, N.; MANNA, S. K.; SAMANTA, S.; SARKAR, K.; DEBNATH, D.; BANDOPADHYAY, C.; SAHU, S. K.; SHARMA, A. P. Ecological significance and phosphorus release potential of phosphate solubilizing bacteria in freshwater ecosystems. **Hydrobiologia**, vol. 745, p. 69 - 83. 2015.

NOCKER, A.; FERNÁNDEZ, P. S.; MONTIJN, R.; SCHUREN, F. Effect of air drying on bacterial viability: a multiparameter viability assessment. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 90, p.86-95, 2012.

OTEINO, N.; LALLY, R. D.; KIWANUKA, S.; LLOYD, A.; RYAN, D.; GERMAINE, J. D.; DOWLING, D. N. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. **Frontiers in Microbiology**, p. 01-09, 2015.

ROPER, M. C.; GREVE, L. C.; LABAVITCH, J. M.; KIRKPATRICK, B. C. Detection and visualization of an exopolysaccharide produced by *Xylella fastidiosa* in vitro and in planta. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.73, p. 7252-7258, 2007.

SILVA, A. C. S. da; JUNIOR, A. F. C.; OLIVEIRA, L. A. de. Ocorrência de bactérias solubilizadoras de fosfato nas raízes de plantas de importância econômica em Manaus e Rio Preto da Eva, Amazonas. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. p. 37-42. fev. 2011.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Atividade de microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2001001200007>. Acesso em: 4 abr. 2015.

SOARES, J. B., CASIMIRO, A. R. S., ALBUQUERQUE, L. M. B. **Microbiologia Básica**. 2ª. Edição. UFC. 1991.

SOARES JR, F. L.; MELO, I. S.; DIAS, A. C. F.; ANDREOTE, F. D. Cellulolytic bacteria from soils in harsh environments. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, p. 2195-2203, 2012.

SOUCHIE, E. L.; ABOUD, A. C. de S. Solubilização de fosfato por microrganismos rizosféricos de genótipos de Guandu cultivados em diferentes classes de solo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, p.11-18, mar. 2007.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PERREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazônica**, v. 12, p. 15-22, 1982.