



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós- graduação em Biologia Microbiana

**Seleção de leveduras promotoras de crescimento vegetal:
Solubilização de macronutrientes e produção do fitormônio ácido
indolacético**

Gabriella Barbosa da Silva

Brasília, 2025

Gabriella Barbosa da Silva

**Seleção de leveduras promotoras de crescimento vegetal:
Solubilização de macronutrientes e produção do fitormônio ácido
indolacético**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biologia Microbiana da Universidade de Brasília para a obtenção
do título de mestre em Biologia Microbiana.

Orientador: Prof. Dr. João Ricardo Moreira de Almeida

Brasília, 2025

Resumo

A canola (*Brassica napus*) é uma cultura com alto potencial de expansão de mercado, principalmente pela possibilidade do uso de seu óleo na produção de biocombustíveis. A cultura requer grande quantidade de nutrientes para melhor produção de grãos. O potássio é um nutriente altamente demandado pela maioria das culturas e o sucesso e a qualidade na produção agrícola exigem que este esteja disponível da maneira adequada para as plantas. Fertilizantes potássicos empregados no Brasil são em sua grande maioria importados. Dessa forma, visando diminuir essa dependência do país, o uso de rochas, que caracteriza prática mais sustentável, vem sendo estudado a fim de diminuir custos de produção e impactos ambientais. As rochas silicáticas possuem teor considerável desse nutriente em sua composição que promove o suprimento de K. Contudo, a forma como o K encontra-se disponível não condiz com a velocidade e necessidades agrícolas. Da mesma forma, o fósforo (P) é um elemento essencial para as plantas e por se tratar de um nutriente que apresenta forte interação com o solo (fixação), sua falta acaba sendo limitante para a produção. O uso de microrganismos surge como uma proposta biotecnológica relevante para acelerar a solubilização desses nutrientes no solo. Além disso, microrganismos podem interagir positivamente com plantas, produzindo fitormônios que estimulam o crescimento vegetal. Diante disso, este trabalho tem como objetivo identificar linhagens de leveduras que atuem como bioestimulantes. Ou seja, produtos que contêm substâncias naturais com diferentes composições, concentrações e proporções, que podem ser aplicados diretamente nas plantas, nas sementes e no solo, com a finalidade de incrementar a produção. Para alcançar esse objetivo, 72 leveduras foram prospectadas pela capacidade solubilizar quatro fontes diferentes de K utilizando pó de rocha comercial (PRC-1, PRC-2, PRC-3 e PRC-4) e uma de P (fosfato tricálcio), e pela capacidade de produção de ácido inolacético. A condução de bioensaio de solubilização de K e P em condições laboratoriais permitiu a seleção de 26 linhagens com características quanto à solubilização e produção de ácido indolacético. Posteriormente, 8 linhagens foram avaliadas pela capacidade de promover o crescimento da canola em casa de vegetação, selecionadas conforme desempenho nos parâmetros avaliados: teor de clorofila, diâmetro, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e razão entre raiz e parte aérea. Os resultados demonstraram uma tendência de benefício da inoculação de leveduras, conclui-se que leveduras possuem características favoráveis ao uso como bioestimulantes.

Palavras chaves: Bioestimulante, biossolubilização de potássio, leveduras promotoras de crescimento

Abstract

Canola (*Brassica napus*) is a crop with high market expansion potential, mainly due to the possibility of using its oil in the production of biofuels. The crop requires a large amount of nutrients for ideal grain production. Potassium is a highly demanded nutrient by most crops, and success and quality in agricultural production require that it be adequately available to plants. The potassium fertilizers used in Brazil are mostly imported. Therefore, aiming to reduce this dependence on imports, the use of rocks, which characterizes a more sustainable practice, has been studied to reduce production costs and environmental impacts. Silicate rocks have a considerable amount of this nutrient in their composition, which promotes the supply of K. However, the way in which K is made available does not keep pace with agricultural needs. Similarly, phosphorus (P) is an essential element for plants and, being a nutrient that interacts strongly with the soil (fixation), its lack ends up being limiting for production. The use of microorganisms emerges as a relevant biotechnological proposal to accelerate the solubilization of these nutrients in the soil. In addition, microorganisms can interact positively with plants, producing phytohormones that stimulate plant growth. Therefore, this work aims to identify yeast strains that act as biostimulants. That is, products that contain natural substances with different compositions, concentrations and proportions, which can be applied directly to plants, seeds and soil, in order to increase production. To achieve this objective, 72 yeast strains were selected for their ability to solubilize four different sources of K using commercial rock powder (PRC-1, PRC-2, PRC-3 and PRC-4) and one source of P (tricalcium phosphate), and for their ability to produce indoleacetic acid. A bioassay of K and P solubilization under laboratory conditions allowed the selection of 26 strains with solubilization and indoleacetic acid production characteristics. Subsequently, eight strains were evaluated for their ability to promote canola growth in a greenhouse, selected according to their performance in the evaluated parameters: chlorophyll content, stem diameter, shoot dry weight, root dry weight, and root/shoot ratio. The results demonstrated a tendency for beneficial effects from yeast inoculation, concluding that yeasts possess favorable characteristics for use as biostimulants.

Keywords: Biostimulant, potassium biosolubilization, growth-promoting yeasts

Lista de Abreviações

° C: graus Celsius

atm: atmosferas

rpm: rotação por minuto

UFC: unidade formadora de colônia

YPD: meio yeast extract peptone dextrose

pH: potencial hidrogeniônico

OD₆₀₀: densidade óptica a 600nm

AIA: ácido indolacético

GA: ácido giberélico

K: potássio

P: fósforo

H₃PO₄: ácido fosfórico

H₂PO₄⁻: di-hidrogenofosfato

HPO₄⁻²: hidrogenofosfato

PO₄⁻³: fosfato

PRC: Pó de rocha comercial

Lista de figuras

Figura 1. Diferentes técnicas utilizadas para inoculação de microrganismos em semente, raiz, no solo e parte aérea (foliar) Fonte: Lopes et al (2021).....	13
Figura 2. Etapas para obtenção de um produto bioestimulante comercial.	15
Figura 3. Interação benéfica entre plantas e fungos promotores de crescimento de plantas (FPCP). Fonte: Adaptado de Hossain; Sultana (2020).....	16
Figura 4. Mapa da disponibilidade de K em mg kg ⁻¹ no território brasileiro. Fonte: Adaptado de Prado, (2008)	20
Figura 5. Ciclo do fósforo no solo. Transformações microbianas do fósforo. Fonte: Adaptado de Tsai; Rossetto, (1992).....	24
Figura 6. Vias biossintéticas de produção do ácido indol-3-acético em plantas. Fonte:(Adaptado de Taiz e Zeiger, 2006).....	27
Figura 7. Principais produtores mundiais de grãos de canola. Fonte: Adaptado de USDA (2021)	30
Figura 8. Principais matérias- primas utilizadas na produção de Biodiesel. Fonte: Dados do sistema de Movimentação de Produtos (SIMP) da ANP e do ODK.	32
Figura 9. Estádios de desenvolvimento da canola nas condições do bioma Cerrado. Fonte: Adaptado de Edwards e Hertel (2011)	33
Figura 10. Variação de pH em meio sintético contendo PRC-1 como única fonte de potássio..	47
Figura 11. Variação de pH em meio sintético contendo PRC-2 como única fonte de potássio..	48
Figura 12. Variação de pH em meio sintético contendo PRC-3 como única fonte de potássio.	49
Figura 13. Variação de pH em meio sintético contendo PRC-4 como única fonte de potássio. .	51
Figura 14. Quantificação de K em sobrenadante de cultura de leveduras.....	56
Figura 15 Variação de pH em meio sintético NBRIP como única fonte de fósforo..	58
Figura 16. Quantificação de P em mg/L.....	61
Figura 17. Quantificação do ácido indolacético.....	62
Figura 18. Linhagens que apresentaram produção de AIA na ausência de L-triptofano.	63
Figura 19. Plântulas representativas de cada tratamento mostrando o efeito da inoculação de leveduras.....	65
Figura 20. Efeito da inoculação de leveduras no percentual de germinação de sementes de canola.....	66
Figura 21. Efeito da inoculação de leveduras na velocidade de germinação..	66
Figura 22. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da parte aérea das plântulas de canola.....	67
Figura 23. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da raiz de plântulas de canola..	68
Figura 24. Razão apresentada entre a raiz e a parte aérea..	68

Figura 25. Efeito da inoculação de leveduras no comprimento da parte aérea de plântulas de canola.....	69
Figura 26. Efeito da inoculação de leveduras no comprimento da raiz de plântulas de canola.	69
Figura 27. Efeito da inoculação de leveduras no vigor das plântulas de canola.	70
Figura 28. Ranking de classificação das linhagens de leveduras que atingiram valores de quantificação superiores a 50 ug/mL na produção de AIA.	72
Figura 29. Efeito da inoculação de leveduras no teor de clorofila de plantas de canola.	73
Figura 30. Efeito da inoculação de leveduras no diâmetro de plantas de canola.	74
Figura 31. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da raiz de plantas de canola.	74
Figura 32. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da parte aérea de plantas de canola..	75
Figura 33. Efeito da inoculação de leveduras na razão entre raiz/parte aérea.....	76
Figura 34. Efeito da inoculação de leveduras no teor de clorofila de plantas de canola.	77
Figura 35. Efeito da inoculação de leveduras no diâmetro de plantas de canola.	78
Figura 36. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da raiz de plantas de canola.	78
Figura 37. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da parte aérea de plantas de canola..	79
Figura 38. Efeito da inoculação de leveduras na razão entre raiz/parte aérea.....	80
Figura 39. Análise colorimétrica destacando os melhores desempenho das linhagens em cada parâmetro avaliado, * indica linhagens selecionadas. (MSPA): massa seca da parte aérea, (MSR) massa seca da raiz e (C_PA) comprimento da parte aérea.....	80
Figura 40. Efeito da inoculação de leveduras no teor de clorofila de plantas de canola.	81
Figura 41. Efeito da inoculação de leveduras no diâmetro de plantas de canola.	82
Figura 42. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da raiz de plantas de canola..	83
Figura 43. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da parte aérea de plantas de canola.	83
Figura 44. Efeito da inoculação de leveduras na razão entre raiz/parte aérea.	84
Figura 45. Plantas representativas de cada tratamento mostrando o efeito da inoculação de leveduras.....	85
Figura 46. Análise colorimétrica destacando os melhores desempenho das linhagens em cada parâmetro avaliado, (*) indica as linhagens selecionadas.(MSPA): massa seca da parte aérea, (MSR) massa seca da raiz e (C_PA) comprimento da parte aérea.....	85
Figura 47. Resultado em g/kg dos macronutrientes Potássio e Magnésio.....	87
Figura 48. Resultado em g/kg dos macronutrientes Fósforo e Cálcio.....	87

Lista de tabelas

Tabela 1. Inoculantes microbianos já testados em estudos acadêmicos, cultura utilizada e efeito no crescimento/ desenvolvimento. Fonte: Adaptado de: Florencio et al, 2022.....	13
Tabela 2. Utilização de microrganismos associados à rochagem.	19
Tabela 3. Diferentes microrganismos utilizados para a solubilização de K in vitro. Fonte: Do autor, (2024)	22
Tabela 4. Diferentes leveduras e fungos utilizados para solubilização de P e seus benefícios.	26
Tabela 5. Desempenho das linhagens de leveduras quanto à capacidade de alterar o pH do meio. Foram consideradas apenas as linhagens que se destacaram em um ou mais meios. (X) indica leveduras que reduziram o pH abaixo de 6, (valorXX) indica linhagens que quantificaram e reduziram pH, (valor) quantificou e não reduziu e (-) ausência de quantificação e redução do pH	51
Tabela 6. Diferentes microrganismos testados quanto a capacidade de solubilização de K.	57
Tabela 7. Diferentes microrganismos testados quanto a capacidade de solubilização de P.	59
Tabela 8. Produção de AIA com e sem a suplementação de triptofano.	64
Tabela 9. Ranking de classificação das linhagens de leveduras que atingiram notas superiores a 4.	71
Tabela 10. Critérios de pontuação.	71

SUMÁRIO

Resumo	3
Lista de Abreviações	5
Lista de tabelas	8
SUMÁRIO	9
1. Introdução.....	11
1.1 Bioestimulante.....	11
1.2 Ação dos microrganismos na rizosfera.....	15
1.3 Rochagem.....	18
1.4 Potássio no Solo e na planta.....	19
1.5 Biossolubilização de K.....	21
1.6 Fósforo no solo e na planta	23
1.7 Biossolubilização de P.....	25
1.8 Produção de fitormônios.....	27
1.9 Canola (Brassica Napus) e sua fenologia.....	29
2 Objetivo Geral	34
2.1. Objetivos Específicos	34
3. JUSTIFICATIVA.....	35
4. Materiais e métodos	36
4.1 Microrganismos.....	36
4.2 Meios de cultura	36
4.3 Curva de crescimento dos microrganismos.....	37
4.4 Avaliação do efeito da inoculação de leveduras na germinação <i>in vitro</i> de canola	38
4.4.1 Parâmetros de Germinação	39
4.4.2 Comprimento parte aérea e radícula	40
4.4.3 Massa seca da parte aérea e radícula	40
4.5 Seleção de linhagens capazes de solubilizar K.....	41
4.6 Seleção de linhagens capazes de solubilizar P	41
4.7 Ensaio de produção do fitormônio AIA por indução com L-triptofano.....	42
4.8 Ensaio em casa de vegetação para avaliar a capacidade de leveduras como bioestimulantes de canola	42
4.8.1 Preparação do inóculo.....	43
4.8.2 Delineamento do plantio	43
4.9 Ensaio em casa de vegetação para avaliar a capacidade de leveduras como bioestimulantes associado à técnica de rochagem.....	44

4.9.1 Preparação do inóculo.....	44
4.9.2 Delineamento do plantio	45
4.10 Análise estatística	45
5. Resultados e Discussão	46
5.1 Ensaio de solubilização de K em meios sintéticos	46
5.2 Solubilização de K.....	53
5.3 Ensaio de solubilização de P	57
5.4 Quantificação de fósforo em meio NBRIP.	59
5.5 Quantificação da produção do fitormônio AIA por indução com L-triptofano.....	61
5.6 Ensaio de Germinação	64
6. Bioensaio realizado em casa de vegetação.....	70
6.1 Primeiro ciclo de plantio	72
6.2 Segundo ciclo de plantio	76
6.3 Bioensaio realizado em casa de vegetação associado à técnica de rochagem	80
6.3.1 Macronutrientes em Plantas de Canola que obtiveram melhor desempenho.....	86
7. Conclusão	89
8. Perspectivas	89

1. Introdução

Os microrganismos auxiliam no desenvolvimento e crescimento das plantas, sendo assim considerados ferramentas sustentáveis capazes de afetar positivamente a produção e manutenção de agroecossistemas. Uma grande variedade de espécies microbianas, incluindo as presentes no solo, pode interagir com as plantas atuando de certa forma no desenvolvimento vegetal através do aumento da resistência a fatores bióticos e abióticos, e também promovendo o desenvolvimento radicular, influenciando o crescimento e desenvolvimento vegetal. Muitas hipóteses têm sido atribuídas para justificar a promoção de crescimento vegetal por parte dos microrganismos, por exemplo, exsudação de compostos solúveis, os processos tanto de mineralização quanto de mobilização de nutrientes, produção de hormônios vegetais bem como a solubilização de fosfato (Silva et al. 2015). O uso de biológicos apresenta vantagens tais como a melhor absorção de água e nutrientes por parte das plantas, aumento da resistência a estresse hídrico e também aos efeitos dos resíduos de herbicidas presentes no solo. O uso de bioestimulantes na agricultura, além de proporcionar um cenário mais sustentável, diminui os custos da produção por gerar produtos de qualidade elevada e levar a um rendimento superior nas culturas (Russo e Berlin apud Vasconcelos, 2006). O Brasil possui uma biodiversidade rica e ainda pouco explorada, nesse sentido, estudos voltados para o uso de microrganismos têm crescido considerando a importância dos mesmos para a manutenção da qualidade de ambientes e na diminuição dos impactos ambientais (Bezerra et al, 2020). O mercado desses produtos apresenta crescente demanda no país e com estimativa de triplicar até a próxima década (Rouphael et al ,2018).

1.1 Bioestimulante

Frente às mudanças climáticas cada vez mais drásticas, a agricultura tem como desafio minimizar os impactos gerados em sua decorrência. Faz-se necessário atender à demanda por alimento que é crescente nos dias atuais. O estudo do manejo agrícola juntamente com tecnologias e ferramentas ecologicamente corretas permitem o alcance da sustentabilidade (Dittmer et al, 2023).

Segundo o MAPA, “bioestimulantes são produtos que contêm substância natural com diferentes composições, concentrações e proporções, que pode ser aplicado diretamente nas

plantas, nas sementes e no solo, com a finalidade de incrementar a produção, melhorar a qualidade de sementes, estimular o desenvolvimento radicular, favorecer o equilíbrio hormonal da planta e a germinação mais rápida e uniforme, interferir no desenvolvimento vegetal, estimular a divisão, a diferenciação e o alongamento celular, incluídos os processos e as tecnologias derivados do bioestimulante” (GOVERNO DO BRASIL, 2021).

Os quatro principais grupos de bioestimulantes utilizados são: aminoácidos e hidrolisados de proteínas, substâncias húmicas, extratos de algas e os microrganismos que são objeto de estudo deste trabalho (Embrapa, 2016).

Os mecanismos de ação dos microrganismos sobre as plantas são cruciais no desenvolvimento vegetal. Os principais são: desempenho na atuação e regulação de fitormônios, aumentando a concentração de auxinas, giberelina, citocinina e outros. Além disso, são capazes de biodisponibilizar nutrientes essenciais para o crescimento da planta e produzem substâncias capazes de induzir resistência sistêmica ao hospedeiro que diminuem os danos que podem ser causados por fitopatógenos (ácido cianídrico, antibióticos). Os metabólitos voláteis, que também podem ser secretados pelos microrganismos, induzem resistência a doenças e estresses abióticos. Sendo assim os microrganismos promotores de crescimento em plantas elevam a qualidade dos vegetais por conta da sua ação como bioestimulantes, biofertilizantes e biocontrole (Lopes et al, 2021).

O Brasil é o maior consumidor de insumos biológicos enquanto a Europa ocupa a posição de maior produtora desses insumos. O principal objetivo do uso dessas biotecnologias é a redução da dependência dos químicos convencionais, atendendo à necessidade por práticas mais sustentáveis. O uso de bioestimulantes é uma prática economicamente viável, uma vez que os custos de produção diminuem em relação aos produtos convencionais (Beudot, 2024).

Complementando as práticas já estabelecidas na lavoura, os produtos biológicos já são ferramentas existentes no mercado, podendo aumentar a lucratividade, reduzir prejuízos e preservar os ambientes em que são utilizados. Estes produtos atendem às diversas necessidades das culturas, oferecendo soluções como inoculantes: inoculantes para solubilização de fósforo, nematicidas microbiológicos, fixador foliar de nitrogênio, inseticidas microbiológicos (Biológicos, s.d).

No grupo de bioestimulantes encontram-se os inoculantes. Um inoculante é caracterizado como substância que contenha microrganismos que possuam atuação benéfica para o desenvolvimento vegetal (Ferreira et al, 2024).

Uma das vantagens alcançada através da inoculação de leveduras está relacionada às propriedades do solo e os benefícios gerados. Foi demonstrada a influência positiva no diâmetro

do solo afetando a estabilidade dos macroagregados durante o período de incubação. No estudo, foi avaliado o potencial de formação de biofilme através da incubação de isolados de *Pichia kudryavzevii* e a influência na qualidade do solo. Também foram observados efeitos positivos nas propriedades biológicas do solo, houve uma maior atividade desidrogenase, um dos indicadores da qualidade do solo, em solo inoculado com leveduras (Ramya et al 2021).

A inoculação é o método pelo qual os microrganismos são colocados em contato com a planta de interesse. Diante disso, conhecimentos tanto à respeito do inoculante quanto da planta são essenciais para o sucesso dessa prática. A inoculação pode ser apenas de um isolado ou com coinoculação (Lopes et al, 2021).

O método como a inoculação é realizada deve considerar aspectos que são cruciais para o sucesso, como quantidade de inóculo, multiplicação e distribuição na rizosfera, aspectos fisiológicos da planta e também condições do solo como pH, umidade (Lopes et al, 2021). As técnicas utilizadas para promover uma inoculação eficaz consideram todos os aspectos mencionados e podem ser empregadas em diferentes estádios do crescimento vegetal. A figura 1 mostra as técnicas possíveis para aplicação da inoculação.



Figura 1. Diferentes técnicas utilizadas para inoculação de microrganismos em semente, raiz, no solo e parte aérea (foliar) Fonte: Lopes et al (2021).

A tabela 1 apresenta espécies microbianas e o efeito de sua inoculação em diferentes cultura e os possíveis efeitos em decorrência de sua utilização.

Tabela 1. Inoculantes microbianos já testados em estudos acadêmicos, cultura utilizada e efeito no crescimento/ desenvolvimento. Fonte: Adaptado de: Florencio et al, 2022.

Espécie	Cultura	Efeito	Referência
<i>Rhizophagus clarus</i>	Soja e algodão	Rendimento das plantas e nos teores de P e N	Cely et al (2016)
<i>Aspergillus terreus</i>	Tomate	No crescimento da planta; na resistência contra a infecção por <i>Pseudomonas syringae</i> ;	Yoo et al (2018)
<i>Trichoderma virens</i>	Alface e Rúcula	Desenvolvimento das plantas e da captação de N pelas plantas;	Fiorentino et al (2018)
<i>Trichoderma harzianum</i> <i>e Pochonia</i> <i>chlamydosporia</i>	Soja	Desenvolvimento e aumento da massa de grãos	FIDELIS et al (2023)
Mistura de isolados (<i>G. rubripertincta</i> SO-3B-2, MB- P3A-49, MB-P3-C68 e SO-3L-3 de <i>Pseudomonas stutzeri</i>) e <i>Bacillus cereus</i> AVIC-3-6	Pepino (cultivo hidropônico)	Controle da podridão radicular causada por <i>Pythium aphanidermatum</i> e crescimento vegetal	CORRÊA et al (2011).
<i>Serratia sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Trichoderma asperellum</i>	Arroz	Taxa fotossintética e biomassa de matéria seca da parte aérea do arroz.	Nascente et al. (2017).

Considerando a ideia da utilização das leveduras que destacam-se por suas características promotoras de crescimento vegetal, a compreensão do processo de produção de um bioestimulante à base desses microrganismos pode ser observada a seguir:

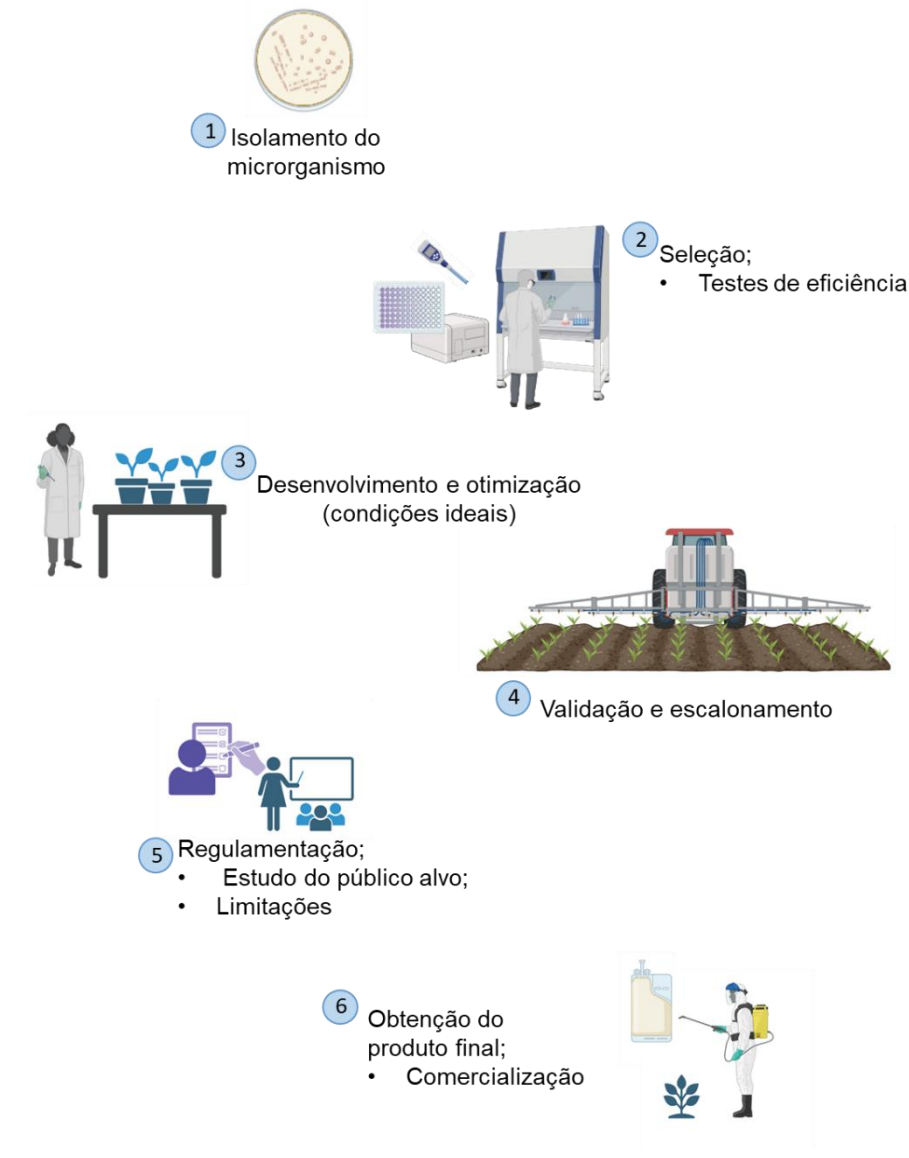


Figura 2. Etapas para obtenção de um produto bioestimulante comercial.

1.2 Ação dos microrganismos na rizosfera

A rizosfera é considerada a região do solo com forte influência das raízes e plantas e a alta atividade entre si. Além disso, proporciona ambiente adequado para o crescimento microbiano além de moldar as comunidades predominantes (Solanki et al, 2024). Nessa fração do solo, os microrganismos assumem papéis importantes, nos ambientes naturais e agrícolas, atuando na disponibilidade de nutrientes e transformações da matéria orgânica (Silveira; Freitas, 2007). Uma das principais fontes de nutrientes para a comunidade microbiana são os compostos orgânicos que são secretados principalmente pelas raízes das plantas na forma de

exsudatos. Esses exsudatos variam de acordo com a espécie e são compostos por vitaminas, enzimas, compostos voláteis, ácidos orgânicos e outros (Hirata; Andrade, 2011).

Os exsudatos radiculares exercem influência significativa na comunidade microbiana presente na rizosfera, pois servem como substrato para o crescimento dos mesmos, selecionando de certa forma, a colonização microbiana. O mesmo é válido para os microrganismos, que também influenciam a zona radicular através de metabólitos que atuam na permeabilidade de células radiculares, disponibilidade de nutrientes e outros (Silveira; Freitas, 2007).

Nesse contexto, os Fungos promotores de crescimento em plantas (FPCP) são conhecidos como o grupo de fungos que colonizam as raízes presentes na rizosfera e influenciam positivamente o desenvolvimento das plantas. São fungos saprofíticos, e não causam patogenicidade à planta. São classificados como endofíticos, pois habitam dentro das raízes onde há troca de metabólitos de forma direta com a planta, ou epífitos, onde habitam livremente na parte externa da raiz (Hossain; Sultana, 2020).

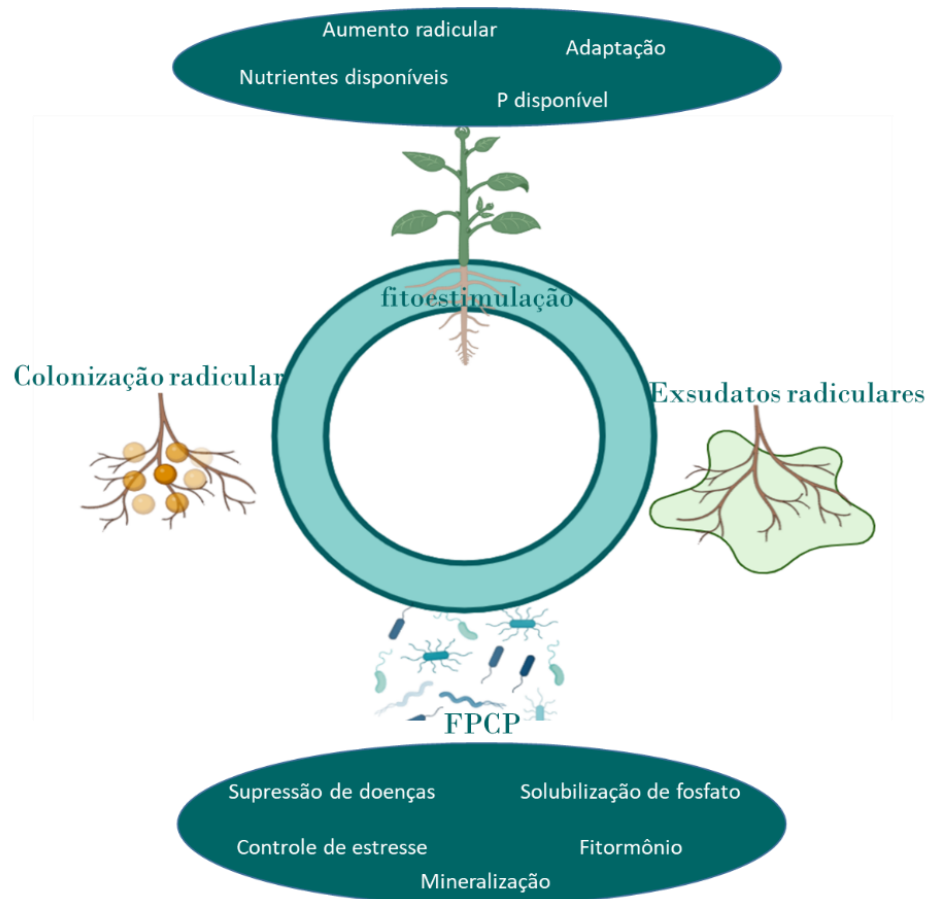


Figura 3. Interação benéfica entre plantas e fungos promotores de crescimento de plantas (FPCP). Fonte: Adaptado de Hossain; Sultana (2020).

A promoção de crescimento por parte dos FPCP (Figura 3) não é atribuída apenas a um único mecanismo possível. Sabe-se que esses mecanismos de promoção de crescimento podem ser tanto de ordem direta quanto indireta. A maneira direta acontece quando os fungos produzem substâncias ou disponibilizam nutrientes que interferem positivamente no crescimento das plantas. Já a forma indireta ocorre quando os fungos são capazes de suprimir patógenos e melhorar estresses tanto de ordem biótica quanto abiótica que acabam influenciando no desenvolvimento da planta (Hossain; Sultana, 2020). Os FPCP mais relatados são do gênero *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Piriformospora*, *Phoma* e *Trichoderma*. Após a análise de resultados dos diferentes estudos, constatou-se que a partir dessas interações (planta-PGPF) foram observados efeitos positivos na germinação, no vigor das mudas, produção de biomassa e eficiência fotossintética (Hossain; Sultana, 2020).

Um microrganismo capaz de produzir reguladores de crescimento vegetal ou até mesmo alterá-los, como no caso de fitormônios, AIA, GA, etileno e outros é conhecido como fitoestimulador. (Vejan et al, 2016). A produção de fitormônio por microrganismos pode gerar crescimento vegetal e aumentar a quantidade de metabólitos gerados pela planta que podem ser usados para o seu desenvolvimento.

As plantas interagem de forma simbiótica com fungos micorrízicos e bactérias. As interações possuem várias classificações, sendo a micorrízico arbuscular (MA) mais conhecida. Nesse caso, a simbiose acontece entre a planta e o fungo da classe *Glomeromycota*, e trata-se de uma interação obrigatória, ou seja, o fungo tem seu ciclo de vida completo apenas na presença da planta hospedeira (Hirata; Andrade, 2011).

Uma outra interação bastante conhecida é a Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN), que acontece entre plantas e bactérias diazotróficas; a associação entre elas permite a captura do nutriente no ar e a fixação dele pelas bactérias. Trata-se de um processo biológico importantíssimo para as plantas, ficando atrás somente da fotossíntese (Embrapa, [s.d.]).

Já as leveduras atuam como agente de controle no solo contra fungos patogênicos através de interações envolvendo tanto micoparasitismo como antibiose. Também possuem capacidade de causar indução de resistência vegetal. Além disso, a competição por nutrientes promovida por leveduras interfere na saúde vegetal especialmente por conta da produção de hormônios de crescimento, como por exemplo, o ácido indolacético (AIA) (Ali et al, 2024).

Os mecanismos antagonistas que estão envolvidos na ação contra os patógenos vegetais que envolvem o micoparasitismo são consequência do crescimento mais acelerado das

leveduras em relação aos microrganismos patogênicos, sendo assim, ocorre redução na oferta de nutrientes disponíveis e a rápida colonização até mesmo em plantas (Nimsi et al., 2023). A atividade de inibição contra patógenos desempenhada pelas leveduras contribui também para a preservação ambiental, uma vez que a utilização de fungicidas de maneira exacerbada acarreta em poluição.

1.3 Rochagem

A técnica de rochagem consiste na incorporação da rocha moída, na forma de pó, junto ao solo, a fim de promover nutrientes necessários ao crescimento vegetal (Prates et al, 2022). A utilização de rochas como ferramenta na fertilização dos solos já é comum, inclusive as rochas silicáticas. Todavia, a disponibilidade do potássio pode ser lenta, contrária a produção agrícola. Assim sendo, aliado ao uso das rochas, associar métodos de biossolubilização de potássio caracteriza uma técnica agrícola vantajosa.

De acordo com Martins (2023), “os remineralizadores são uma categoria de agrominerais silicáticos com diversos grupos, podendo ser ricos em cálcio e magnésio (basálticos), cálcio (calcissilicáticos), magnésio (ultramáficos), potássio (alcalinos) ou cálcio, magnésio e potássio (ultramáficos alcalinos)”.

O potássio não costuma ocorrer de forma elementar e a maioria dos minerais que possuem esse nutriente encontra-se na forma insolúvel, sendo sua dissolução possível através de forte ataque químico acompanhado de tratamento térmico. O grupo de micas apresenta características interessantes para aplicação como remineralizadores, levando em conta sua estrutura aberta e significativos teores de potássio. Como exemplo temos: biotita (7-12%), flogopita (11-17%), muscovita (7-10%), ilita (4-8%) e glauconita (5- 8%) (Cara et al, 2012)

Grande parte dos fertilizantes potássicos consumidos pelo Brasil é fruto de importação devido à baixa produção interna (Castiglione et al, 2021). O potássio aparece como principal nutriente utilizado pelos produtores, 38%, em seguida o fósforo, 33%, e o nitrogênio, 29%. Culturas importantes como a soja, a cana e o milho demandam adubação de forma significativa, cerca de 73% do consumo nacional.

O uso de pó de rocha para promoção da nutrição para plantas ainda é questionável por tratar-se de um material de baixa solubidade, dessa forma a utilização dos microrganismos para promover uma maior velocidade no processo de solubilização torna-se alternativa promissora

(Alovisi et al, 2020). A tabela 2 reúne informações de trabalhos acadêmicos sobre a utilização de microrganismos associados à técnica de rochagem e seus efeitos.

Tabela 2. Utilização de microrganismos associados à rochagem.

Espécie	Cultura	Efeito	Referência
<i>Rhizobium tropici</i>	Feijão (Vermelho rajado)	Aumento na produtividade	Machado et al, (2022)
Isolado de fungos e bactérias (<i>Burkholderia</i> , <i>Bacillus</i> e <i>Talaromyces</i> e <i>Penicillium</i> no)	Milho	Aumento na disponibilização de P in vitro a partir de fosfato de Itafós e fosfato de Araxá	GOMES et al, (2014)
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>Kurstaki</i>	Alface	Aumento na produtividade	de Oliveira et al, (2024)

1.4 Potássio no Solo e na planta

A presença de K no solo não necessariamente significa sua inteira disponibilidade. Segundo Korndörfer (2003, apud Kinpara; 2003) a existência de K varia de 7 kg.ha⁻¹ e 15 t.ha⁻¹, porém apenas cerca de 1 a 2% encontra-se disponível nas formas trocáveis (adsorvidas) ou solúveis (na solução do solo).

Outro fator associado à disponibilidade de K e também a outros nutrientes diz respeito a capacidade de troca de cátions (CTC). A CTC corresponde à quantidade total de cátions retidos à superfície desses materiais em condição permutável ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^{+} + \text{H}^{+} + \text{Al}^{3+}$). Um solo com CTC ocupado por cátions essenciais como Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^{+} caracteriza um solo favorável no aspecto de nutrição de plantas. Já uma CTC baixa indica que o solo tem pouca capacidade de retenção de cátions trocáveis, sendo assim recomendadas as adubações parceladas para o combate dessa deficiência (Ronquim, 2010).

Outro fator importante está relacionado à intensidade de chuvas associada à baixa presença de matéria orgânica que favorece a lixiviação desse nutriente, acarretando em baixa CTC. Na figura 4 é possível observar a influência de disponibilidade de K através da ocorrência de precipitação sobre a ocorrência de K nos solos brasileiros no aspecto biomas.

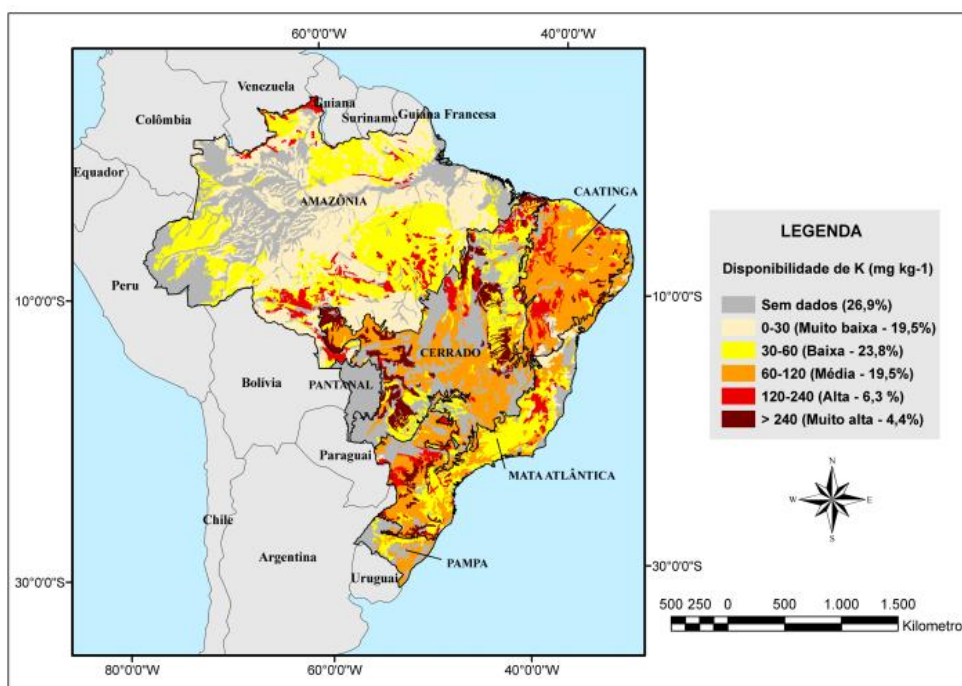


Figura 4. Mapa da disponibilidade de K em mg kg⁻¹ no território brasileiro. Foram determinadas 5 classes de disponibilidade de potássio: muito baixa, baixa, média, alta e muito alta. O percentual indica o quanto de território corresponde a cada classe estipulada. Fonte: Adaptado de Prado, (2008)

Segundo Prado (2008), a alta concentração de K na Caatinga está atribuída à baixa precipitação que varia em torno de 400 a 800 mm ao ano. Em contrapartida, a região da Amazônia, os teores mais baixos de K decorrem da alta precipitação, e consequentemente maior lixiviação. Já o cerrado é caracterizado por ter seus teores variando entre baixo e médio, necessitando de constantes aplicações de fertilizantes devido ao sistema de monocultura e pastagens.

A forma iônica K⁺, presente na solução do solo, é a forma absorvida pelas raízes. Na presença de altas concentrações de Ca²⁺ e Mg²⁺ o nutriente pode ter sua absorção reduzida. Apesar de variar conforme a espécie, a exigência de K para crescimento vegetal adequado está entre 2 a 5 % na matéria seca (Faquin, 2005).

Devido à sua permeabilidade nas membranas plasmáticas, o K torna-se facilmente absorvido e transportado a longa distância tanto pelo xilema quanto pelo floema. Por conta da maior parte na planta ser encontrada na forma solúvel, sua redistribuição é ainda mais fácil no

floema. Em um cenário com baixo fornecimento de K, o mesmo é redistribuído das folhas mais velhas para as mais jovens; assim, os sintomas de deficiência são perceptíveis inicialmente nas folhas mais velhas. Essa observação é de extrema importância no aspecto nutricional, pois através da percepção dessa deficiência é possível entrar com correção na adubação, melhorando a nutrição da planta (Faquin, 2005).

O potássio é um dos nutrientes mais demandados pelas plantas, sendo bastante utilizado na agricultura. É um macronutriente essencial para o desenvolvimento, além de participar de várias fases durante o crescimento vegetal, como, por exemplo, atuação como catalisador de enzimas participantes da síntese de proteínas e regulador do controle osmótico dos estômatos. Exerce também função de destaque quando se encontra ligado à enzima piruvato-quinase, atuando na respiração celular e no metabolismo de carboidratos (Kinpara, 2003). Fisiologicamente falando, este nutriente está presente em importantes processos metabólicos vegetais, tendo funções de relevância na fotossíntese, síntese de proteínas e carboidratos.

Devido ao seu papel no crescimento radicular, formação de grãos e tantos outros processos, uma maior produtividade implica a exigência de K pela cultura. É comum que os solos brasileiros sejam carentes em K, uma vez que sua forma solúvel pode sofrer lixiviação facilmente. Logo, apenas a presença da rocha matriz não assegura o fornecimento adequado deste elemento. A baixa capacidade de troca catiônica (CTC) desses solos (sob cerrado) acarreta na baixa capacidade de armazenamento de K (Kinpara, 2003).

O potássio é essencial para um dos processos fisiológicos considerados mais importantes para a planta, a fotossíntese. O K, completamente envolvido na manutenção e funcionamento dos estômatos, permite que a fixação de CO₂ aconteça. Influência nas condições do cloroplasto, taxas de pH e também ativação enzimática. As condições de pH proporcionam a produção de ATP no processo de fotossíntese e importantíssimo no processo de troca de H⁺/K⁺ (Johnson et al, 2022). Também é responsável por ser um dos fatores que afetam o mecanismo de abertura e fechamento estomático. As elevadas concentrações de k⁺ nas células guardas promovem o aumento da pressão osmótica, reduzem o potencial osmótico e a água da célula (Faquin, 2005).

1.5 Biossolubilização de K

A produção agrícola demanda doses elevadas de potássio que são fornecidas através de fertilizantes. O cloreto de potássio aparece como uma das principais fontes desse nutriente, contudo apresenta alto índice salino que pode ser prejudicial às plantas, além de aumentar

significativamente os custos de produção. O uso de nutrientes que possuam KCl em sua composição influenciam negativamente no aspecto ambiental, podendo afetar a microbiota do solo. Um outro problema diz respeito à quantidade demandada desses fertilizantes potássicos, já que o mercado nacional não supre toda a necessidade existente, assim tornando o país dependente da importação para obtenção desses fertilizantes (Silva et al, 2015). Nesse contexto, o uso de opções bioestimulantes surge como alternativa, fortalecendo a bioeconomia e gerando a oportunidade para mitigar os impactos ambientais.

Várias rochas presentes no território brasileiro estão sendo avaliadas quanto à sua capacidade de atuar como fonte alternativa de adubação potássica. Pesquisas têm sido realizadas a fim de encontrar estratégias para acelerar a solubilização de K e aumentar sua disponibilidade. Para tanto, microrganismos têm sido prospectados para elevar a disponibilidade de K. (Silva et al, 2015).

Muitas bactérias foram reportadas quanto à capacidade de solubilizar K, dentre elas, *Pseudomonas*, *Acidithiobacillus*, *Rhizobium* e outras. Dentro do grupo dos fungos, *Aspergillus* e *Penicillium* são os mais comuns. No caso dos fungos micorrízicos, esses promovem o aumento de K solúvel através da solubilização de K proveniente de minerais potássicos presentes no solo por conta da liberação de ácidos orgânicos e prótons no meio (Silva et al. 2015). Já dentre as leveduras, fungos unicelulares, *Candida tropicalis*, *Rhodotorula* e *Yarrowia lipolytica* são algumas das leveduras relatadas quanto ao seu potencial na solubilização de fosfato (Devi et al, 2025).

Muitas hipóteses têm sido atribuídas para justificar a promoção de crescimento vegetal, por exemplo, e exsudação de compostos solúveis, os processos tanto de mineralização quanto mobilização de nutrientes, produção de hormônios vegetais e até mesmo a solubilização de fosfato (Silva et al 2015). A Tabela 3 apresenta algumas espécies de leveduras já utilizadas para a solubilização de K e promoção de crescimento vegetal.

O uso de microrganismos capazes de tornar este elemento prontamente disponível tem sido adotado como estratégia para promover sua disponibilidade, já que apresenta baixo custo econômico e ambiental, além de agregar em atividades agrícolas (Silva et al. 2015).

Tabela 3. Diferentes microrganismos utilizados para a solubilização de K in vitro. Fonte: Do autor, (2024)

Microrganismo	Efeito	Utilização	Referência
---------------	--------	------------	------------

<i>Rhodotorula glutinis</i> e <i>Pichia anomala</i>	Solubilização de K	Crescimento em mudas de milho	Mohamed et al (2017)
<i>Rhizophagus clarus</i> e <i>Gigaspora margarita</i>	Incremento nos teores de P, K, MG e Ca	Inoculação em mudas de Paricá (<i>Schizolobium pabyba</i>)	Brito et al (2017)
<i>Torulaspota globosa</i>	Solubilização de K	Potencial biotecnológico, aplicação como biofertilizante	Rosa-Magri et al (2012)

1.6 Fósforo no solo e na planta

As formas H_3PO_4 , $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} são encontradas na solução do solo e sua concentração está altamente atrelada às condições de pH. Normalmente sua presença na solução do solo são consideradas baixas ao comparar com a necessidade demandada pelas culturas (Mendes et al, 2003).

O fósforo que compõe a fração sólida do solo classifica-se em 2 grupos: lábil e não lábil. Essas duas frações são conhecidas como fração trocável e não trocável respectivamente ou P-orgânico e P-inorgânico. A identificação das formas como se encontra não é simples, visto as diversas possibilidades de reações que o mesmo pode sofrer (Gatiboni et al, 2003) (Figura 5). O processo conhecido como adsorção não específica ocorre quando o P- lábil de maneira geral encontra-se adsorvido às cargas eletropositivas que compõem o solo, em minerais como os óxidos de Fe e Al. Já a fração conhecida como não- lábil de P é retida de duas formas distintas, através da adsorção específica ou pela formação de complexo de esfera interna. Nesse processo os íons de fosfatos trocam seus ligantes por hidroxilas, resultando em formação de uma, duas ou até mesmo três ligações covalentes entre ânion fosfato e os minerais presentes no solo (Vilar; Vilar, 2013).

A imobilização é o processo em que os microrganismos fazem uso dos fosfatos disponíveis incorporando-os em moléculas de ácidos nucléicos e fosfolipídios. Ocorre a partir

da decomposição da matéria orgânica do solo, dessa forma, certas quantidades de fósforo são assimiladas para desenvolvimento das células microbianas (Tsai; Rossetto 1992).

A mineralização é o processo no qual os microrganismos desfazem as estruturas das biomoléculas de animais, plantas, matéria orgânica no geral para torná-los em formas moleculares mais simples. O processo de mineralização é dependente de alguns aspectos: a origem e composição da matéria orgânica, temperatura, pH e umidade do solo. (Tsai; Rossetto 1992).

A solubilização decorre da baixa disponibilidade de P para as plantas, sendo necessário que esse processo ocorra transformando o P da fase sólida para a solução. Esse processo de disponibilização é dependente de pH, do teor de óxidos e também outros fatores que podem interferir no equilíbrio P-sólido/ P-solução (Pavinato et Rosolem, 2008).

Na figura 5 é apresentado o ciclo do fósforo no solo, as formas de entrada no nutriente no sistema, a forma como ele é encontrado os processos de imobilização, mineralização e solubilização, além das formas de perda.

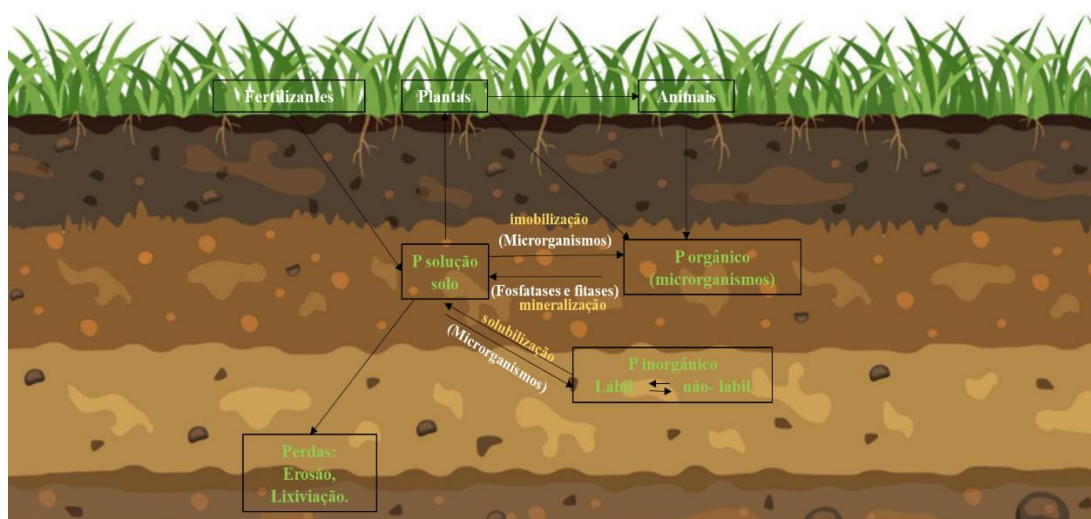


Figura 5. Ciclo do fósforo no solo. Transformações microbianas do fósforo. Fonte: Adaptado de Tsai; Rossetto, (1992)

A adição de fósforo em agroecossistema permite a observação de resultados positivos na produção, uma vez que se trata de um nutriente que geralmente é o mais limitante nos sistemas de produção (Gomes et al, 2008).

Na planta, o fósforo aparece na forma tanto inorgânica como orgânica. Em sua forma inorgânica, ele é predominantemente como ortofosfato (PO_4^{3-}) e em quantidade inferior, como pirofosfato (P-P). As formas inorgânicas compõem uma parcela significativa do fósforo total presente nos tecidos vegetais (Faquin, 2005).

A translocação do fósforo no xilema acontece especialmente na forma como geralmente ele é absorvido (H_2PO_4^-), tendo a possibilidade também de surgir como fosforila-colina ou ésteres de carboidrato. A mobilidade do fósforo é alta dentro do sistema planta, logo possui alta distribuição através do floema como fosforil-colina. No momento em que as plantas encontram-se com níveis satisfatórios em nutrição de P, 85% a 95% do P inorgânico total localiza-se nos vacúolos. Dessa forma, quando há um decréscimo no fornecimento de P, o mesmo deixa o vacúolo e tem sua redistribuição conduzida para os órgãos em desenvolvimento. Devido à mobilidade do nutriente, sintomas de sua deficiência podem ser observados nas folhas mais velhas (Faquin, 2005).

1.7 Biossolubilização de P

Vários são os mecanismos possíveis para a solubilização de fósforo através dos microrganismos, podendo ser: ácidos orgânicos, síntese de enzimas, sideróforos e também a respiração microbiana (García-Berumen et al, 2025).

A principal forma de solubilização de P mineral por microrganismos se dá a partir de ácidos orgânicos que são secretados por eles. Esse processo causa a acidificação do ambiente externo. Geralmente o ácido glucônico é encontrado comumente no processo de solubilização. Uma outra forma é através de ATPases durante a absorção de cátions com liberação de H^+ , substâncias quelantes e formação de ácidos inorgânicos (De Oliveira et al, 2003). Os sideróforos atuam na quelação de cátions metálicos liberando o fósforo eficientemente (García-Berumen et al, 2025).

Os fosfatos orgânicos são solubilizados através da mineralização que acontece a partir de restos vegetais e animais. As moléculas ricas de P através do processo de mineralização são os ácidos nucléicos, fosfolipídios e açúcares fosfatados, ácido fítico, polifosfatos e fosfonatos. As enzimas atuantes nesse processo são as fosfatases ou fosfohidrolases (fitases) e são categorizadas como ácidas ou alcalinas considerando o pH ótimo de atividade (De Oliveira et

al, 2003) Essas enzimas são sintetizadas por microrganismos solubilizadores e atuam na mineralização de compostos orgânicos de fósforo (García-Berumen et al, 2025).

Atualmente a agricultura brasileira passa por mudanças na condução de manejo. No contexto de produção cada vez mais crescente, pesquisas e utilização de inoculantes biológicos surgem como alternativa. No caso do fósforo o BiomaPhos tem apresentado resultados animadores quanto sua utilização. O produto possui em sua composição bactérias do tipo *Bacillus subtilis* e *B. megaterium*, essas bactérias possuem características vantajosas de aplicação, apresentando capacidade de formação de endósporo, que as configuram como microrganismos mais estáveis possibilitando sua aplicação ainda que em ambientes extremos (Oliveira-Paiva et al, 2021). A tabela a seguir destaca alguns fungos e leveduras testados em trabalhos acadêmicos e o efeito alcançado em decorrência da sua utilização.

Tabela 4. Diferentes leveduras e fungos utilizados para solubilização de P e seus benefícios.

Microrganismo	Efeito	Utilização	Referência
<i>Candida tropicalis</i> HY	Promoção de crescimento em plantas	Potencializar crescimento em mudas de arroz e solubilização de P	Amprayn et al. (2012)
<i>Williopsis californica</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Regulador de crescimento vegetal	Estimular processo de nitrificação, e solubilização de P em solo	Falih et Wainwright (1995)
<i>Rhodotorula sp</i>	Promoção de crescimento em plantas	Estimular crescimento e desenvolvimento em mudas de tomate	Millan et al. (2020)
<i>Trichoderma</i> e <i>Aspergillus</i>	Biossolubilização de P	Solubilização de P em solos	Silgado et al. (2020)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Torulaspora delbrueckii</i>	Promoção de crescimento em plantas	Solubilização de fósforo e produção de poliaminas	Fawzy et al. (2022)

1.8 Produção de fitormônios

Os hormônios vegetais ou fitormônios são substâncias orgânicas que desempenham funções essenciais na regulação e no crescimento das plantas. A absorção tanto de nutrientes como de água pode ser indiretamente estimulada através dos microrganismos, a partir do aumento do sistema radicular por produção de fitormônios, que por sua vez controlam processos bioquímicos e fisiológicos nas plantas. Essa interação pode ser benéfica influenciando no vigor e metabolismo das plantas (HOSSAIN MM, et al 2020).

Os fitormônios pertencem a diferentes classes, como auxinas, giberelinas, ácido abscísico, etc. No grupo das auxinas, o ácido indolacético (AIA) é um fitormônio associado ao alongamento de células e promoção de raízes laterais e adventícias e manutenção da dominância apical (Lana et al 2017).

Na maior parte das plantas existe a possibilidade de 3 rotas possíveis para a produção do AIA como produto final (Figura 6). Elas partem a partir da molécula de triptofano, como aminoácido precursor dos intermediários que seguem até o AIA. Indol-3-piruvato (AIP) é a via mais utilizada pelas plantas, porém outras duas são notórias são elas a triptamina (TAM) e indol-3-acetamida (IAN). Abaixo é possível observar essas rotas biossintéticas (Carvalho et al, 2022).

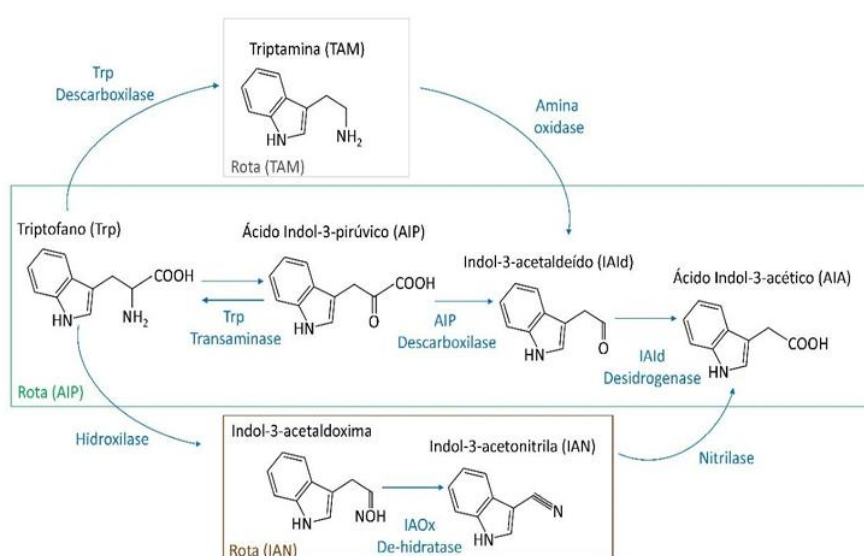


Figura 6. Vias biossintéticas de produção do ácido indol-3-acético em plantas. As três rotas partem da molécula de Trp, como aminoácido precursor dos intermediários até o AIA. Fonte: (Adaptado de Taiz e Zeiger, 2006).

A síntese de AIA não é exclusiva em tecidos vegetais, por exemplo, sua produção pode ocorrer também em microrganismos como fungos e bactérias, nesse caso a via metabólica central usa o triptofano como precursor (Lana et al,2017). A produção de AIA é observada em microrganismos como bactérias associadas às plantas. Alguns gêneros de bactérias endofíticas e epifíticas que apresentam essa capacidade são: *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Xanthomonas*, entre outras (Lana et al,2017).

As leveduras têm apresentado indícios favoráveis ao crescimento vegetal, devido aos compostos produzidos por elas, como por exemplo o ácido indolacético (AIA). Essas vias de produção não são completamente elucidadas em leveduras, porém em um estudo realizado por Mestre et al,(2025) foi observada a produção de AIA em 2 das três linhagens testadas. A produção foi acompanhada de compostos desconhecidos relacionados ao AIA, dessa forma, a hipótese sugerida foi de que esses compostos poderiam ser intermediários na via biossintética do AIA Mestre et al, (2025).

A levedura *Williopsis saturnus* apresentou capacidade de produção de AIA, refletindo no crescimento e desenvolvimento em mudas de milho. Além disso, as melhores taxas de crescimento nas mudas de milho foram observadas na presença de L-triptofano. A concentração de L-triptofano influenciou significativamente na síntese do fitormônio AIA pelos microrganismos. Contudo, a levedura *W. saturnus*, também apresentou capacidade de síntese de auxinas na ausência de L-triptofano, sugerindo a possibilidade de outras vias metabólicas, ou a obtenção de precursor a partir da planta hospedeira (Nassar et al, 2005).

Estudo com o mutante de *Saccharomyces cerevisiae* sugere a possibilidade de várias vias para a síntese de AIA (Rao et al, 2010). O mutante de *S. cerevisiae* com deleções em 2 genes ALD (ALD2 e ALD3), não é capaz de converter triptofano radiomarcado em AIA, mas ainda assim produz AIA na ausência de triptofano exógeno e em níveis superiores aos do tipo selvagem, apresentando um valor de diferença quatro vezes maior (240,3 ng/ml 71,9 ng/ml) comparado ao tipo selvagem (59.8 ng/ml \pm 3.8 ng/ml). Sugere-se que a levedura possivelmente possui outras vias para a produção de AIA e que não necessariamente sejam dependentes de triptofano. Na via do triptofano, este é convertido em indol-3-piruvato por transaminases aromáticas, ARO8 e ARO9, obtendo intermediário indol-3-acetoaldeído, que é então transformado em ácido indolacético pela ação enzimática das aldeídos-desidrogenases, enfatizando ALD2 e ALD3. Ou seja, os genes ALD (Aldeído-desidrogenases), ARO (Transaminases aromáticas) e ADH (Álcool-desidrogenases) realizaram a conversão de triptofano em AIA (ácido indol-3-acético). A deleção desses genes em mutantes de *S. cerevisiae* foi feita e foi verificada, por meio de marcação radiotiva envolvendo carbono 14, a redução

significativa na produção de AIA por essa via metabólica. Dessa forma, constatou-se a existência de uma via metabólica independente de triptofano na produção de AIA.

1.9 Canola (*Brassica Napus*) e sua fenologia

A canola é uma espécie herbácea, pertence à família Brassicaceae, gênero *Brassica* e possui hastes eretas, podendo seu caule atingir entre 1,4 e 1,8 metros de altura. Seu sistema radicular é típico de eudicotiledôneas com raiz pivotante e presença de raízes secundárias (BEVILAQUA et al., 2008).

As flores da canola são amarelas e o período floral costuma durar em média 3 semanas, com flores hermafroditas prevalecendo a autofecundação. Os frutos se apresentam como síliquas, que passam por um processo de abertura quando secas, contendo em média de 14 a 15 sementes (LOURENÇO E PALMA apud RODRIGUES et al., 2010). De acordo com Iriarte et al (2008) somente 40 a 50 % das flores irão gerar síliquas produtivas, as demais costumam sofrer aborto natural, a maturação dos grãos ocorre no período de 40 a 60 dias após o florescimento (Iriarte et al., 2008)

Ocupando a 3ª posição entre as espécies de oleaginosas mais produzidas no mundo, ficando atrás da soja e da palma de óleo. Teve seu melhoramento obtido através da hibridação de duas espécies de colza, *Brassica oleraceae* e *Brassica rapa*. O melhoramento decorreu da necessidade de se obter uma variedade com baixo teor de ácido erúico e glucosinatos que são considerados tóxicos ao organismo (Guimarães et al, 2022).

O nome Canola é uma abreviação de CANadian Oil Low Acid, essa nomenclatura indica a decorrência do processo de melhoramento para adequar a níveis adequados sua composição, evitando sua toxicidade (Mendonça et al., 2016).

A canola tem como maior produtor e exportador o Canadá, responsável por 28,3% da produção mundial da cultura na safra 2019/20. Na sequência aparecem a União Europeia 24,4% e a China 19,5%. (USDA, 2021). Na figura 7 é possível observar os principais países produtores de canola. No Brasil, a produção teve aumento a partir de 2003; a expansão do cultivo refletiu a elevação da área colhida. Em 1998 contava com uma área de 3,4 mil hectares e em 2020 a produção alcançou algo em torno de 35 mil hectares. Essa evolução se deu principalmente pelo uso de híbridos resistentes à canela-preta.

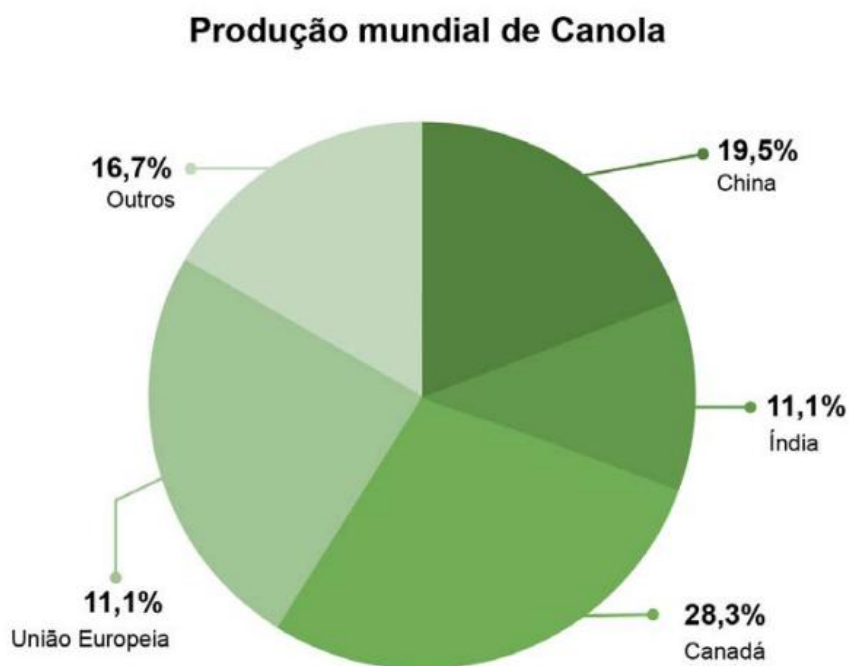


Figura 7. Principais produtores mundiais de grãos de canola. Fonte: Adaptado de USDA (2021)

O rendimento econômico da cultura é um fator impulsionador para os agricultores, uma vez que seu preço acompanha o da soja e seu cultivo pode ser utilizado como safrinha em sistemas de produção de grãos e também na rotação de culturas. Seus restos culturais também podem ser aproveitados, melhorando a qualidade dos grãos em cultivos posteriores (Guimarães et al, 2022).

Além disso, óleo obtido da canola possui qualidade elevada devido à sua composição, alta em níveis de gorduras insaturadas saudáveis, 15% a 30% de ácido linoleico (ômega 6), e 5% a 13% de ácido linolênico (ômega 3), evidenciando sua importância gastronômica e nutricional. Além desses atributos, estudos mostram também a possibilidade de utilização de seu subproduto, o farelo de canola, na alimentação animal (Guimarães et al, 2022).

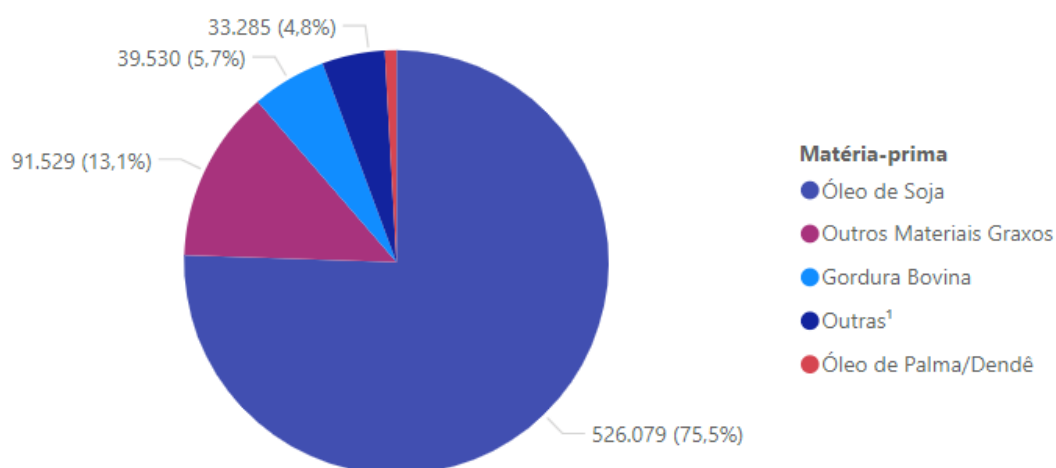
A ampliação da produção de canola voltada à produção de biodiesel é promissora, especialmente pela possibilidade de emprego das mesmas terras, maquinários e estruturas utilizadas também na produção, armazenamento e comercialização de grãos, logo seria possível uma otimização dos recursos já utilizados além de um retorno mais breve (Embrapa, 2016).

Uma outra vantagem está atrelada ao fato de que o produtor adquire a partir do cultivo da cultura em esquema de rotação, por exemplo, a diminuição do ataque de doenças e plantas daninhas, uma vez que a rotação promove conservação do solo e quebra do ciclo de doenças (Embrapa, 2009).

Como mencionado anteriormente, as perspectivas para a produção da canola são animadoras no País, que tem a possibilidade de expansão de produção nas áreas onde são produzidas as culturas de milho e soja no verão, tal fato é justificado levando em conta que existe uma necessidade de diversificação de espécies oleaginosas a fim de reduzir a dependência e também a sazonalidade da soja no verão (Embrapa, 2016).

Muitas são as fontes de matérias primas para a produção de biocombustível utilizadas no Brasil, destacam-se a soja, milho, girassol, algodão, canola, palma e outras. Hoje em dia, a principal fonte de matéria prima utilizada no país é a soja (figura 8), correspondendo a 76% do biodiesel produzido, seguida da gordura animal 19%. É importante salientar que menos da metade da produção de soja é destinada à produção de biodiesel (Embrapa, 2016).

Outro ponto importante para considerar a cultura da canola relevante para a produção de biocombustível, dá-se ao fato de vantagem em relação a outras culturas, por exemplo, os grãos produzidos no Brasil apresentam um teor elevado de óleo (38%), isso representa quase o dobro do que é encontrado na cultura da soja (Embrapa, 2009). A figura 8 apresenta as principais matérias primas utilizadas para a produção de biodiesel no País. Nota-se a pequena presença da cultura da canola no cenário atual.



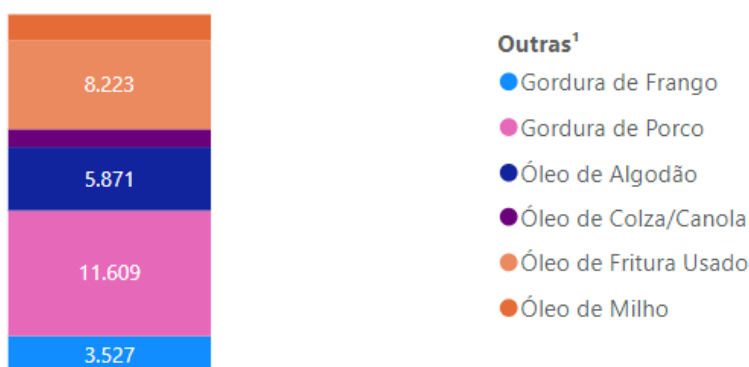


Figura 8. Principais matérias- primas utilizadas na produção de Biodiesel. Fonte: Dados do sistema de Movimentação de Produtos (SIMP) da ANP e do ODK.

A partir do conhecimento da fenologia de uma cultura é possível planejar o manejo adequado, pois dessa maneira é possível conhecer a demanda de cada fase além de permitir melhor execução das práticas agrícolas através da subdivisão do ciclo (Embrapa, 2023).

A canola é uma cultura anual cujo ciclo em condições de cerrado pode variar entre 100 e 135 dias. Seu desenvolvimento comporta 7 estádios fenológicos que vão da germinação e emergência de plântulas, produção das folhas, alongamento da haste principal, desenvolvimento dos botões florais, florescimento, desenvolvimento das síliques e enchimento dos grãos e finalmente a maturação dos grãos (Embrapa, 2022). A figura 9 representa as fases de desenvolvimento da canola.

Albrecht et al, (2004) observaram que na fase de germinação, a aplicação de adubação potássica favoreceu a germinação e vigor das sementes de canola. Nessa fase ocorre a absorção de água além do desencadeamento de processos bioquímicos. No ensaio, cinco doses de K foram testadas (0, 40, 81, 120 e 160 kg ha⁻¹ de K₂O), com quatro repetições e tratamentos em arranjo de parcelas subdivididas. Como resultado, notou-se que maiores doses resultaram em maior rendimento dos grãos de canola. A fase de germinação pode ser influenciada pelo fornecimento de K.

A canola possui uma alta demanda por nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S). A deficiência desses nutrientes é bastante comum em solos que apresentam baixo teor de matéria orgânica, além de elevada acidez (Tomm, 2007).

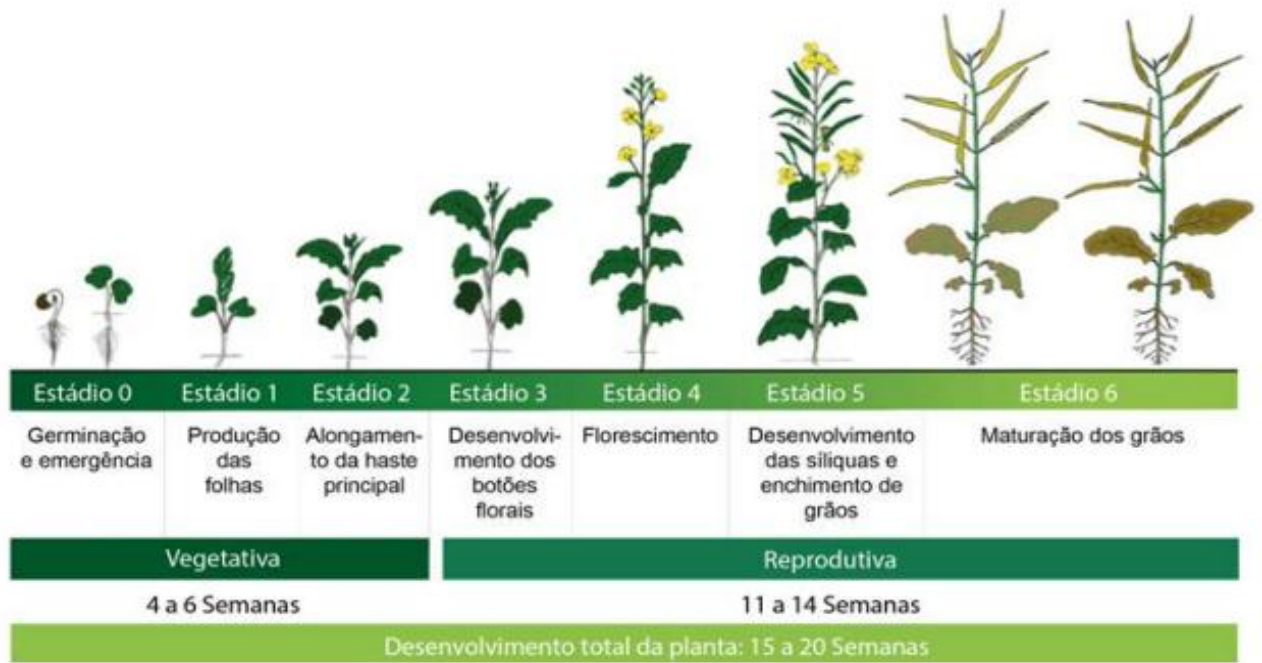


Figura 9. Estádios de desenvolvimento da canola nas condições do bioma Cerrado. Fonte: Adaptado de Edwards e Hertel (2011)

2 Objetivo Geral

- Identificar linhagens de leveduras bioestimulantes para a cultura da canola.

2.1. Objetivos Específicos

- Identificar linhagens de leveduras capazes de solubilizar potássio;
- Identificar linhagens de leveduras capazes de solubilizar fósforo;
- Identificar linhagens de leveduras capazes de produzir AIA;
- Avaliar *in vitro* a influência de leveduras selecionadas na germinação e no crescimento inicial das plantas de canola;
- Avaliar o crescimento e desenvolvimento de plantas de canola através de bioensaios conduzidos em casa de vegetação com linhagens selecionadas.

3. JUSTIFICATIVA

Diante da necessidade de obtenção de uma agricultura mais equilibrada, é imprescindível que práticas cada vez mais sustentáveis sejam incorporadas à agricultura. O uso de microrganismos capazes de solubilizar nutrientes para as plantas é uma ferramenta que atenua problemas durante o cultivo. A agricultura é um forte pilar da economia para o país e o uso de bioestimulantes cresce significativamente diante das vantagens geradas pelo seu uso, como por exemplo, a diminuição nos impactos ambientais gerados.

O emprego da utilização de produtos bioestimulantes gera benefícios para as plantas, como a melhor absorção de nutrientes, através da produção de fitormônios capazes de proporcionar aumento radicular. Otimiza o consumo de água, uma vez que seu sistema radicular torna-se mais amplo, proporcionando maior capacidade de absorção. Há também uma redução do impacto do estresse hídrico. Os produtores também são beneficiados com a redução dos custos, além de uma maior produtividade. Na esfera ambiental, o ganho ocorre através da estimulação da biodiversidade, uma vez que o uso de microrganismos propicia o equilíbrio em ambientes agrícolas, assim sendo, ajuda também na preservação e manutenção do solo.

As culturas em sua grande maioria demandam uma quantidade significativa de fertilizantes contendo K e P, com reflexo direto na produção. O Brasil é altamente dependente da importação desses fertilizantes. Dentro deste contexto, esse trabalho tem como objetivo obter linhagens de leveduras altamente eficientes na solubilização tanto de potássio quanto de fósforo, podendo serem utilizadas como bioestimulantes para a cultura da canola, mitigando assim essa dependência de fertilizantes. Além disso, inexistem no mercado nacional produtos formulados à base de leveduras que apresentem potencial de promoção de crescimento vegetal. Dessa maneira pretende-se alcançar avanços nas diferentes esferas, tanto econômica quanto ambiental.

4. Materiais e métodos

4.1 Microrganismos

As linhagens de leveduras utilizadas são pertencentes à coleção da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e foram conservadas em Glicerol 25% em temperatura -80°C. A identificação por gênero das linhagens encontra-se no Anexo 1.

4.2 Meios de cultura

Todos os meios utilizados neste trabalho foram autoclavados para garantir condição estéril para cultivo sob condições de 120 °C, 1 atm por 20 minutos. Conforme necessário, as condições de pH foram ajustadas.

Meio YPD- Yeast Extract Peptone Dextrose:

- Extrato de levedura 1%
- Dextrose (D- glicose) 2%
- Peptona 2 %
- Ágar 2% foi adicionado para obtenção de YPD sólido.

Meios sintéticos para solubilização de Fósforo:

Meio NBRIP ca:

- Glicose 1%
- Fosfato tricálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) 0,5%
- Cloreto de magnésio hexahidratado 0,5%
- ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0,5%
- Sulfato de magnésio hexahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0,025%
- Cloreto de potássio (KCl) 0,02%
- Sulfato de amônio ($\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 0,01%
- Ágar bacteriológico 1,5%

Ao final do preparo o pH do meio é ajustado com NaOH para 7,0.

Meio modificado Aleksandrov (1967):

- Glicose 0,5%
- Sulfato de magnésio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0,05%
- Cloreto de ferro (III) (FeCl_3) 0,0006%
- Carbonato de cálcio (CaCO_3) 0,01%
- Fosfato tricálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) 0,2%
- **Fonte de potássio 0,3%**
- Ágar bacteriológico 1,5%

Fontes de potássio: Pó de rocha comercial

1. PRC-1
2. PRC-2
3. PRC-3
4. PRC-4

Ao final do preparo o pH do meio é ajustado para 7,2 usando de 1- 2 gotas de HCl 1M.

4.3 Curva de crescimento dos microrganismos

As leveduras foram estriadas em placas de Petri contendo meio YPD sólido a partir de estoques armazenados em -80°C . Para o pré-inóculo, as linhagens foram inoculadas em 10 mL de YPD em falcons de 50 ml, e posteriormente incubadas a 28°C , 200 rpm por 24 horas. Após o crescimento das leveduras, a quantidade de inóculo determinada foi ajustada em OD_{600} 0,2, a partir disso foi transferida para frascos erlenmeyer contendo volume final de 25 ml de meio YPD. Os inóculos de leveduras foram incubados em shakers a 28°C , 200 rpm. Foram coletados pontos do inóculo a cada 2 horas nas primeiras 12 horas iniciais para checar o crescimento das linhagens. Esse processo é feito com o auxílio de um espectrofotômetro portátil OD_{600} , modelo CO800. O crescimento do inóculo tem início no começo da manhã a fim de conseguir observar o crescimento inicial das leveduras (primeiras 12 horas).

Para a observação do crescimento após 12 horas, o processo é repetido. O inóculo é então feito no período do final da tarde, dessa forma as linhagens têm seu crescimento inicial

(primeiras 12 horas) durante a noite e os pontos coletados iniciam-se no outro dia pela manhã mantendo o mesmo padrão de coleta (a cada 2 horas).

4.4 Avaliação do efeito da inoculação de leveduras na germinação *in vitro* de canola

A cultivar Nuola 300 foi empregada para teste de germinação *in vitro*. Os inóculos contendo leveduras são chamados de tratamento, foram testadas 6 linhagens de leveduras (6 tratamentos), além dos controles: água e YPD. O ensaio foi realizado com 5 replicatas, cada tratamento e controle dispunham de 5 caixas contendo 20 sementes cada. Primeiramente, as sementes passaram por um processo de desinfestação com etanol 70% por 3 minutos e em seguida por enxágue com água destilada. Posteriormente foram lavadas em solução 1 % de hipoclorito de sódio e tween20 0,1% por 5 minutos e enxaguadas 3 vezes com água estéril. Depois de secas, as sementes foram dispostas em caixas de acrílico de tamanho 14x14x8cm, contendo papel de germinação estéril umedecido com 4 ml de água destilada estéril. Para o início do experimento, as leveduras foram crescidas em tubo de fundo cônico de 50mL, contendo YPD em volume 10mL a 28°C, 200 rpm por 24 h. Após o crescimento celular, foi realizada uma diluição seriada a fim de saber a UFC (unidade formadora de colônia). A inoculação das leveduras foi feita na semente, sendo elas adicionadas à solução microbiana, os tratamentos foram incubados em shakers 200 rpm, 28°C por 1 hora. Para determinação do tempo necessário para atingir a fase estacionária, as leveduras tiveram seu crescimento monitorado. Foi feita uma correlação entre a OD₆₀₀ e o tempo de crescimento. Em 48 horas, a menor OD₆₀₀ observada entre as leveduras foi de 25. A partir disso, padronizou-se a concentração celular para OD₆₀₀= 25.

Após crescimento das linhagens em YPD por 48h, pelo menos 1×10^8 UFC/mL foram inoculadas em sementes de canola. Após incubação das sementes por 7 dias, foram mensurados parâmetros vegetativos da germinação e da plântula. A porcentagem de germinação foi realizada através do acompanhamento e contagem das sementes que germinam diariamente. Após 7 dias, são avaliados critérios como: comprimento de raiz e parte aérea, os quais são mensurados através do uso de papel milimetrado. Também são avaliados o peso seco da raiz e da parte aérea. A análise de peso seco foi obtida após 48 horas em estufa a 60°C e pesado em balança analítica de precisão.

4.4.1 Parâmetros de Germinação

A taxa de germinação ao longo dos 7 dias foi calculada através da divisão do número de plântulas por 100 sementes avaliadas. A seguir, as fórmulas utilizadas para cálculo dos critérios: porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, índice do vigor de plântula e razão radícula/ parte aérea.

Porcentagem de germinação (Ranal et al, 2009):

$$\%G = \frac{100 \times NSG}{NIS}$$

NSG= Número de sementes germinadas

NIS= Número inicial de sementes

%G= porcentagem de germinação

Índice de velocidade de germinação (Maguire, 1962):

$$IVG = \frac{NSG}{D1} + \frac{NSG}{D2} + \dots + \frac{NSG}{D7}$$

IVG = Índice de Velocidade de Germinação

NSG= Número de sementes germinadas

D= Dia

Índice do vigor de plântula (Abdul-Baki et al, 1973):

$$IVP = (CP + CR) \times \%G$$

CP= comprimento parte aérea

CR= comprimento raiz

%G= Porcentagem de germinação

Razão radícula/ parte aérea:

$$RpPA = \frac{R}{PA}$$

RpPA= Razão radícula por parte aérea

R = Massa seca da Radícula

PA = Massa seca da Parte aérea

4.4.2 Comprimento parte aérea e radícula

O comprimento de raiz e parte aérea é obtido através do uso de papel milimetrado. Raiz e parte aérea são dispostas e esticadas para conferir o tamanho que varia de milímetros a centímetros.

4.4.3 Massa seca da parte aérea e radícula

Para a obtenção do massa seca da raiz e da parte aérea, cada tratamento e suas repetições são colocados em envelopes previamente pesados e colocados em estufa a 60 °C durante 48 horas. Após esse período, o peso dos envelopes é novamente checado e o peso inicial é descontado, restando assim apenas a massa seca final.

4.5 Seleção de linhagens capazes de solubilizar K

Para a seleção de linhagens capazes de solubilizar potássio, 72 leveduras foram testadas utilizando meios sintéticos contendo pó de rochas silicatadas (pó de rocha comercial): PRC-1, PRC-2, PRC-3, PRC-4. AS leveduras foram retiradas do -80 °C, plaqueadas em meio YPD sólido e incubadas a 28 °C por 24 horas. Após, foi realizado o pré-inóculo em 10 mL de meio YPD em tubos de fundo cônico de 50 mL. Os inóculos foram incubados a 28 °C e 200 rpm durante 24 horas. Os inóculos foram realizados para OD₆₀₀ inicial de 0,5 e mantidos em tubo de fundo cônico por 10 dias a 28 °C e 200 rpm contendo pó de rocha específico como fonte de K.

Após o cultivo, foram retiradas as alíquotas de 1 ml de cada cultura para a quantificação de potássio. As amostras passaram por centrifugação (14.000 rpm, 25 °C por 5 minutos). Após a precipitação das células, o sobrenadante é recolhido e congelado (-20° C) para armazenamento até o momento de quantificação. Ao final do cultivo foi checado o pH de cada amostra e posteriormente a quantidade de K solubilizado.

A quantificação de K solúvel foi realizada através da análise dos sobrenadantes recolhidos durante o cultivo. Para tal, foi feito o método FAST- K adaptado. Foram feitas leituras das amostras através do uso do leitor portátil de íon K⁺, modelo LAQUAtwin-K-11, marca HORIBA Scientific.

4.6 Seleção de linhagens capazes de solubilizar P

Bioensaio realizado para avaliar a capacidade de leveduras capazes de biossolubilizar fósforo em meio sintético proveniente de pó de rocha fosfatada. As 72 linhagens de leveduras utilizadas na biossolubilização de potássio, também foram testadas na solubilização de fósforo em meio NBRIP. O meio possui fosfato tricálcio como fonte de fósforo. Leveduras foram retiradas do -80 °C, plaqueadas em meio YPD sólido e incubadas 28 °C durante 24 horas. Em seguida é feito o pré-inóculo em 10 mL de meio YPD em tubos de fundo cônico de 50 mL. Os inóculos foram incubados à 28 °C e 200 rpm durante 24 horas. O preparo do meio sintético foi feito conforme protocolo e o pH ajustado para 7,0. Os inóculos foram realizados para OD₆₀₀ inicial de 0,5 e mantidos em 10 dias de cultivo, ao final foi checado o pH de cada amostra individualmente.

Após o cultivo são retiradas as alíquotas de 1 ml de cada cultura para análise de quantificação de P. As amostras passam por centrifugação (14.000 rpm, 25° C por 5 minutos). Após a precipitação das células, o sobrenadante é recolhido e congelado (-20° C) para armazenamento até o momento de quantificação. A quantificação de P foi realizada por ensaio colorimétrico com a utilização de uma curva padrão, conforme protocolo.

4.7 Ensaio de produção do fitormônio AIA por indução com L-triptofano

Bioensaio foi realizado para avaliar a capacidade de leveduras na produção de AIA. As 72 leveduras que foram testadas quanto a capacidade de solubilizar K e P, também foram avaliadas quanto a produção do ácido indolacético (AIA) que é um fitormônio atuante no desenvolvimento vegetal. O ensaio teve início a partir do plaqueamento das leveduras em meio sólido, que foram incubadas em estufa 28°C durante 24 horas, para obtenção de colônias que foram utilizadas no pré-inóculo. Previamente, os tubos de 50 ml utilizados no cultivo foram preparados, identificados e esterilizados. A solução é filtrada, aliqüotada em tubos de 15mL estéreis e sua estocagem foi feita em freezer -20°C. O pré-inóculo foi realizado em tubos de fundo cônico de 50ml em meio YPD líquido, e incubados em shakers, 200 rpm durante 24 horas. A OD₆₀₀ adotada para 0,2 foi em tubos de 50 mL contendo volume de 6 mL. O ensaio é realizado em duplicata, sendo para cada levedura 2 tubos falcons apenas com YPD e outros 2 com YPD+L-triptofano. O período de incubação foi de 72 horas, 28°C e 200 rpm. Após o período de incubação são retiradas as alíquotas de 2 mL. Estas amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm, 4°C por 5 minutos. O sobrenadante foi recolhido e armazenado em congelador -20°C. Os inóculos foram feitos no escuro devido a característica de fotossensibilidade do L-triptofano.

A quantificação de AIA das linhagens de leveduras foi realizada através de cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas tandem (UHPLC).

4.8 Ensaio em casa de vegetação para avaliar a capacidade de leveduras como bioestimulantes de canola

Bioensaio foi realizado para avaliar a capacidade de leveduras em atuar como bioestimulantes em cultura de canola. Após avaliação da capacidade de solubilização de K, 26 linhagens de leveduras foram selecionadas para condução do bioensaio em casa de vegetação. As linhagens selecionadas para o primeiro ciclo foram: (L3, L10, L32, L33, L39, L40, L43, L44, L49, L52 e L62) e para o segundo: (L12, L16, L18, L20, L37, L41, L49, L51, L56, L57, L58, L59, L63, L64 e L70). Os plantios foram conduzidos em 2 etapas, para tanto, foi utilizada a variedade Nuola 300 (canola).

A preparação do solo foi feita considerando a seguinte proporção: 2 partes de substrato para 1 de vermiculita. Já a adubação utilizada foi NPK 8-8-8, considerada adubação mínima, sendo empregada uma maior relação soluto/ solvente de fertilizante, 20 mL/ L, conforme fabricante e aplicado um volume de 25 ml por planta. O vaso utilizado foi de 3,8 litros. Foram depositadas 2 sementes por vaso, em uma profundidade de cerca de 1 centímetro, a fim de facilitar a germinação. O desbaste foi realizado 5 dias antes da inoculação com leveduras, resultando em uma planta por vaso.

4.8.1 Preparação do inóculo

Para obtenção do inóculo, o mesmo foi preparado através de um pré-inóculo cultivado durante 24 horas sob temperatura de 28°C e rotação de 200 rpm. O inóculo feito a partir do pré-inóculo foi ajustado para concentração inicial de 0,5 e permaneceu em incubação durante 48 h garantido padronização na fase de crescimento entre as linhagens utilizadas, sob as mesmas condições de cultivo.

A contagem de UFC (unidades formadoras de colônia), foi realizada a fim de garantir a inoculação mínima de células. Para tanto, a UFC foi realizada a partir de diluições seriadas do cultivo para conhecer a concentração celular, assegurando a quantidade mínima de aplicação 1×10^8 . Foi feita a diluição sucessiva das amostras em água destilada estéril e posteriormente foram plaqueadas em cultivo sólido de YPD. Após 48 horas de incubação, o número de células foi contado, permitindo calcular a concentração de células.

4.8.2 Delineamento do plantio

O plantio foi realizado em blocos casualizados sendo composto por 3 repetições, contendo 5 plantas cada. O sistema de irrigação adotado foi aspersão e as regas feitas diariamente, com duração de 4 minutos cada, nos horários determinados de 6h, 11 h e 16h.

4.9 Ensaio em casa de vegetação para avaliar a capacidade de leveduras como bioestimulantes associado à técnica de rochagem

Bioensaio realizado para avaliar a capacidade das linhagens de leveduras testadas no plantio conduzido em casa de vegetação. As linhagens de leveduras que obtiveram melhor desempenho na primeira etapa de plantio foram selecionadas para um segundo experimento, no mesmo incorporou-se a técnica de rochagem.

O pó de rocha utilizado no plantio foi escolhido baseado nos resultados do bioensaio de solubilização em meios sintéticos. Optou-se pelo pó de rocha PRC-1, o mesmo indicou um maior número de linhagens que foram capazes de solubilizar nutrientes.

A cultura e a variedade utilizadas no plantio permaneceram as mesmas, canola Nuola 300. A preparação do solo também se manteve, sendo a única alteração realizada, a adição do pó de rocha na composição. Dessa forma, a seguinte proporção foi feita, 2 partes de substrato para 1 de vermiculita, enquanto o PRC-1 incorporado foi de 6 gramas por cada quilograma de solo preparado, respeitando as recomendações do fabricante. Foi respeitado o mesmo padrão de adubação, de maneira mínima, assim como a frequência e tempo de aplicação.

4.9.1 Preparação do inóculo

A metodologia para a preparação e também padronização do inóculo seguiram os procedimentos já descritos anteriormente. Dessa forma, o pré-inóculo passou por um período de cultivo de 24 horas em uma temperatura de 28 °C e agitação de 200 rpm, dando sequência ao cultivo do inóculo por 48 horas em uma concentração inicial ajustada para 0,5. A UFC também se manteve a partir de diluições seriadas, com plaqueamento em meio sólido YPD e incubação por 48 horas, garantindo a aplicação mínima de 1×10^8 .

4.9.2 Delineamento do plantio

A condução do plantio foi realizada em delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, cada uma composta por três plantas cada. O sistema de irrigação permaneceu o mesmo, através de aspersão, com regas diárias realizadas durante quatro minutos cada. Os horários de irrigação foram alterados devido às condições climáticas sendo acrescido de uma rega extra, 6h, 10h, 14h e 17h.

4.10 Análise estatística

Os dados obtidos no presente trabalho foram submetidos à análise estatística através do programa Sisvar. Foi realizada a análise de variância ANOVA, utilizando-se o teste de Scott-Knott (Ferreira, 2011).

5. Resultados e Discussão

A importância do uso de microrganismos promotores de crescimento em plantas, como as leveduras, já é explorada devido aos benefícios decorrentes da sua utilização. Esses benefícios são considerados tanto de ordem direta como indireta (Ignatova et al, 2015). As leveduras são capazes de proporcionar a solubilização de nutrientes como o fósforo e potássio.

A fim de identificar leveduras promotoras de crescimento vegetal, linhagens provenientes da coleção da Embrapa foram avaliadas quanto à capacidade de solubilizar potássio e fósforo de fontes minerais e produzir fitormônio em condições laboratoriais. Para tanto, 72 linhagens de leveduras de várias espécies previamente isoladas de variados ambientes foram cultivadas em meio definido suplementado com diferentes fontes de potássio, fósforo e em meio YPD com e sem a adição de triptofano. Ao final dos ensaios, as linhagens foram ranqueadas pelo seu desempenho e selecionadas para avaliação da capacidade de promover o crescimento vegetal. A seguir, os resultados dos ensaios são apresentados e discutidos.

5.1 Ensaio de solubilização de K em meios sintéticos

Com o objetivo de selecionar as linhagens que promovam solubilização de K, foi realizada uma triagem em 4 diferentes meios sintéticos contendo diferentes fontes de potássio: PRC-1, PRC-2, PRC-3 e PRC-4. Essas fontes foram escolhidas por conter potássio em sua composição. Os valores de pH dos meios foram ajustados para 7,2. Após, alíquotas do sobrenadante foram coletadas para quantificar a quantidade solubilizada. A posterior quantificação de K solúvel nos sobrenadantes foi realizada pelo método fast K, através do uso de um leitor portátil de íon K.

Para os ensaios, cada levedura foi inoculada em meio de cultura definido, contendo umas das fontes de K e incubadas por 10 dias. Ao final do período, foram coletadas amostras para análise de K solúvel e pH do meio de cultura. Como controle foram empregados o meio sem inóculo das linhagens. Todos os ensaios foram realizados em duplicata biológica. Devido ao número de linhagens, foram realizados os cultivos com 15 leveduras e os controles em cada ciclo de avaliação.

Foi demonstrado que a solubilização de minerais, K e P, por microrganismos está muitas vezes correlacionado com redução de pH do meio de cultivo (Oliveira et al, 2003). Dessa forma, inicialmente, avaliou-se quais leveduras causaram maior redução do pH do meio. No primeiro

ciclo com meio PRC-1 (Figura 10a), as leveduras L1, L3, L10, L11, L13 e L15 levaram à maior redução do pH do meio de cultivo, chegando a 4,98, enquanto do controle chegou a 6,50. No segundo ciclo destacaram-se as leveduras L18, L19, L20, L22, L24, L26 e L30 (Figura 10b). Já no terceiro ciclo de avaliação, o controle chegou a 4,81, dessa forma não sendo possível a escolha de uma linhagem, já que o comportamento do controle variou em relação aos demais controles dos outros ciclos de avaliação (Figura 10c). O quarto ciclo apresentou pouca redução no pH, destacando-se apenas 2 leveduras, L48 e L51, enquanto seu controle permaneceu em 7,53 (Figura 10d). Finalmente, o quinto ciclo destacou a levedura L64 e o pH do controle atingiu 7,44 (Figura 10e). Dessa forma, das 71 leveduras avaliadas, apenas 16 se sobressaíram por reduzir o pH do meio.

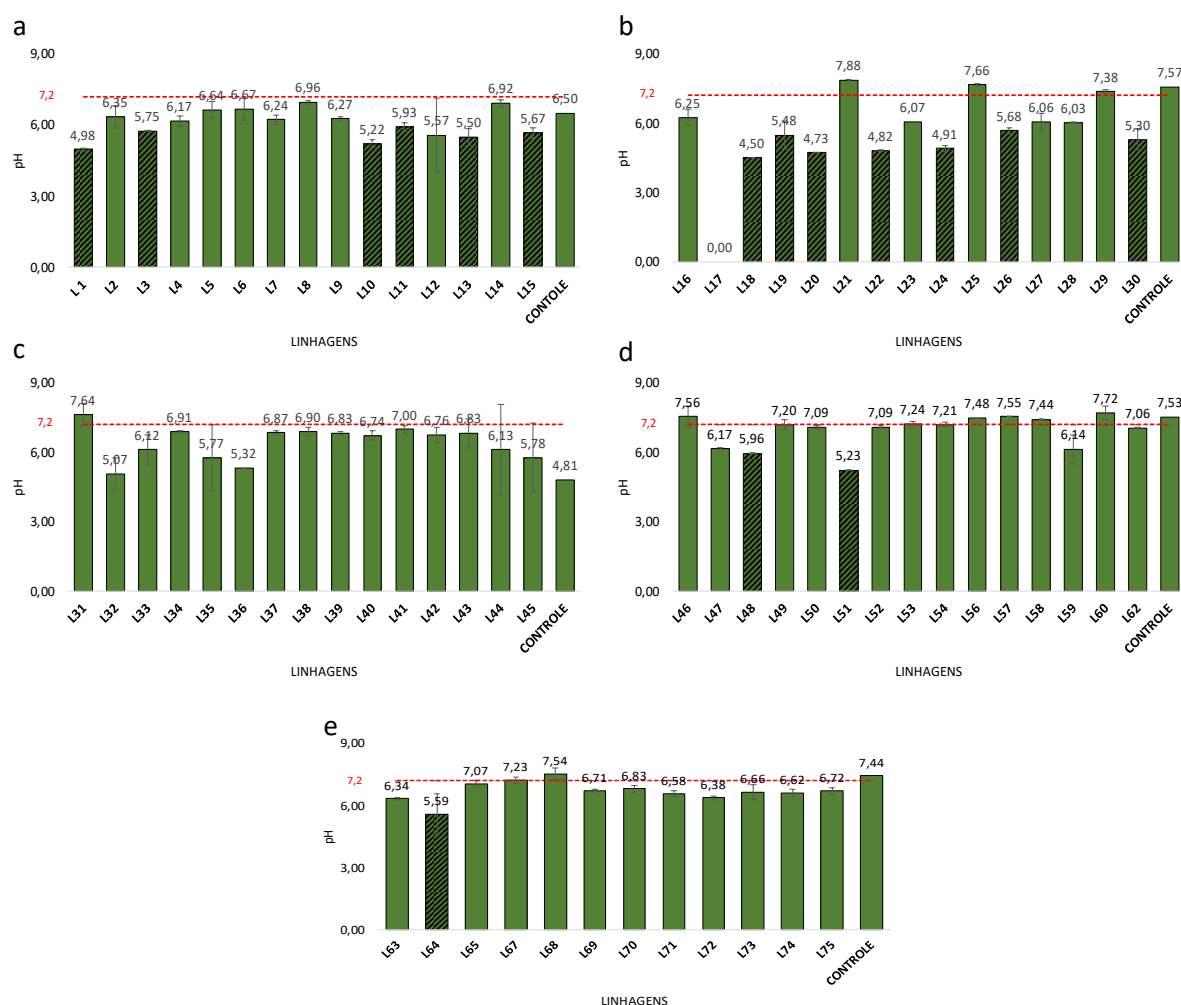


Figura 10. Variação de pH em meio sintético contendo PRC-1 como única fonte de potássio. O meio inoculado com levedura e sem inóculo (controle) foi incubado por 10 dias a 28° C e 200 rpm. O pH inicial do meio (7,2) é indicado pela linha tracejada. A, B, C, D e E representam ciclos 1, 2, 3, 4 e 5 de avaliação. As barras tracejadas representam as linhagens que se destacaram quanto à capacidade de alterar o pH do meio. O critério utilizado para considerar a linhagem eficiente na redução do pH, foi a redução abaixo de 6.

No primeiro ciclo com meio PRC-2 (Figura 11a), as leveduras L1, L3, L7, L9, L11, L12 e L13 levaram à redução significativa do pH do meio, atingindo 4,52; já o controle chegou a 7,30. O segundo ciclo teve como destaque 10 leveduras, sendo elas: L18, L19, L20, L22, L23, L24, L26, L27, L28 e L30, a linhagem L18 reduziu o pH do meio a 4,53, enquanto o controle ficou em 7 (Figura 11b). Já o terceiro ciclo teve também linhagens que sobressaíram na redução do pH do meio são elas: L32, L33, L34, L35, L36, L38, L39, L40, L42, L43 e L44. O resultado mais baixo foi de 4,35 atingido pela levedura L35, já o controle atingiu o valor de 6,50 (Figura 11c). O quarto ciclo teve 6 leveduras com capacidade de redução do pH do meio; são elas: L47, L48, L51, L59, L60 e L62. Já o pH do controle atingiu o valor de 7,31 (Figura 11d). Por fim, no último ciclo de avaliação, nenhuma levedura demonstrou capacidade de redução do pH do meio. Ao todo, 34 leveduras apresentaram capacidade de alterar o pH do meio com PRC-2.

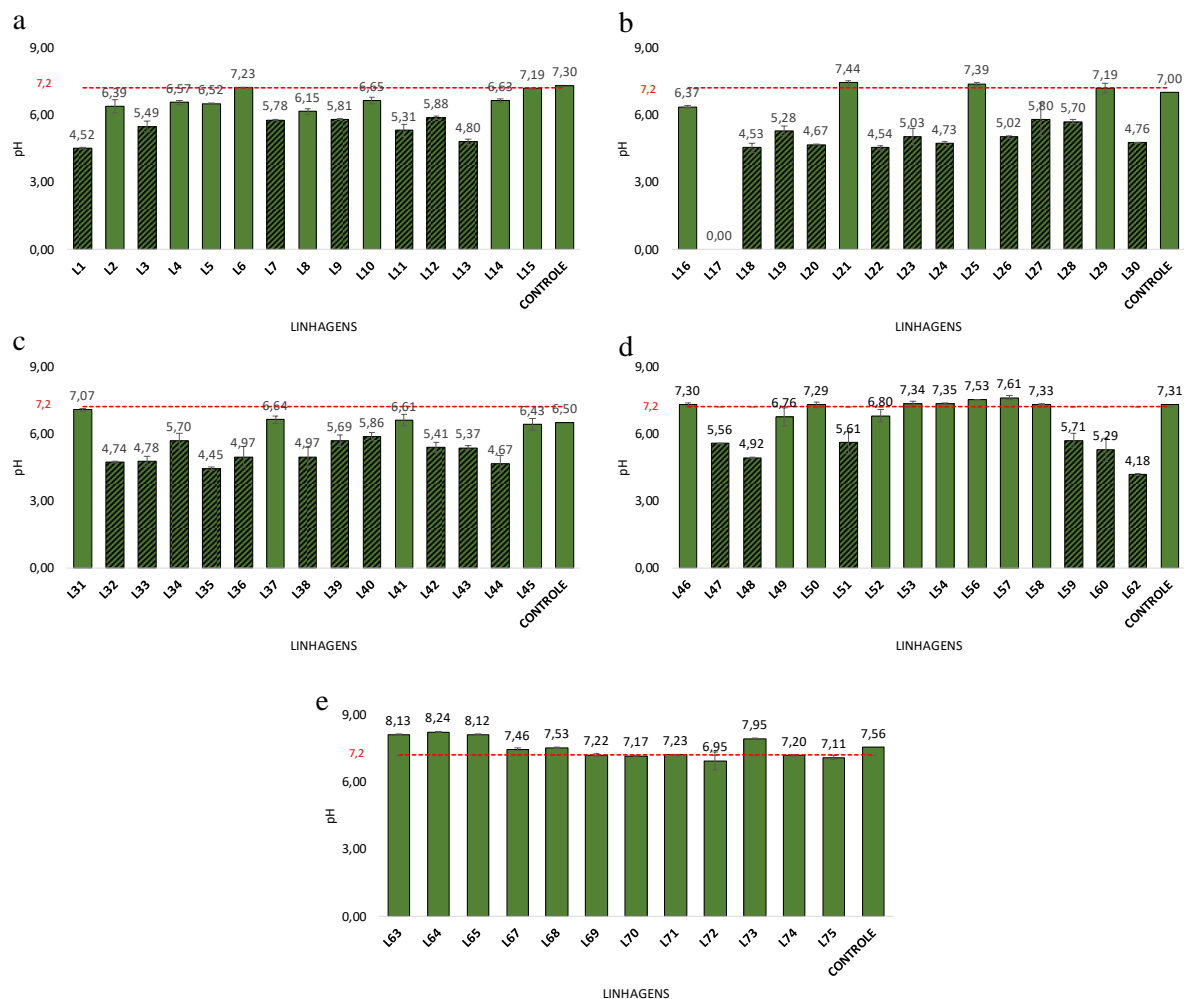


Figura 11. Variação de pH em meio sintético contendo PRC-2 como única fonte de potássio. O meio inoculado com levedura e sem inóculo (controle) foi incubado por 10 dias a 28° C e 200 rpm. O pH inicial do meio (7,2) é indicado pela linha tracejada. A, B, C, D e E representam ciclos 1, 2, 3, 4 e 5 de avaliação. As barras tracejadas representam as linhagens que se destacaram quanto a capacidade de redução do pH do meio. O critério utilizado para considerar a linhagem eficiente na redução do pH, foi a redução abaixo de 6.

Em meio contendo PRC-3, 25 leveduras apresentaram potencial quanto à redução do pH no meio (Figura 12). No primeiro ciclo, 6 linhagens expressaram valores de pH abaixo de 6: L1, L9, L10, L11, L13 e L14, enquanto o controle atingiu 6,50 (Figura 12a). No segundo ciclo, as linhagens L16, L18, L19, L22, L23, L24, L26, L27 e L28 reduziram o pH do meio, a levedura L19 apresentou pH de 4,61 enquanto o controle 7,01 (Figura 12b). O terceiro ciclo de avaliação teve 4 leveduras que atenderam ao critério de redução do meio abaixo de 6, sendo elas: L32, L33, L35 e L41, pH do controle atingiu 7,01 (Figura 12c). Já o quarto ciclo apresentou 5 leveduras com redução de pH significativa, L47, L48, L51, L59 e L62 e seu controle em 7,23 (Figura 12d). Por fim, o quinto ciclo apresentou apenas a linhagem L72 com capacidade de redução de pH abaixo de 6 (Figura 12e). Ao todo em meio PRC-3 foram avaliadas 72 leveduras e apenas 25 satisfizeram ao critério de redução do pH abaixo de 6.

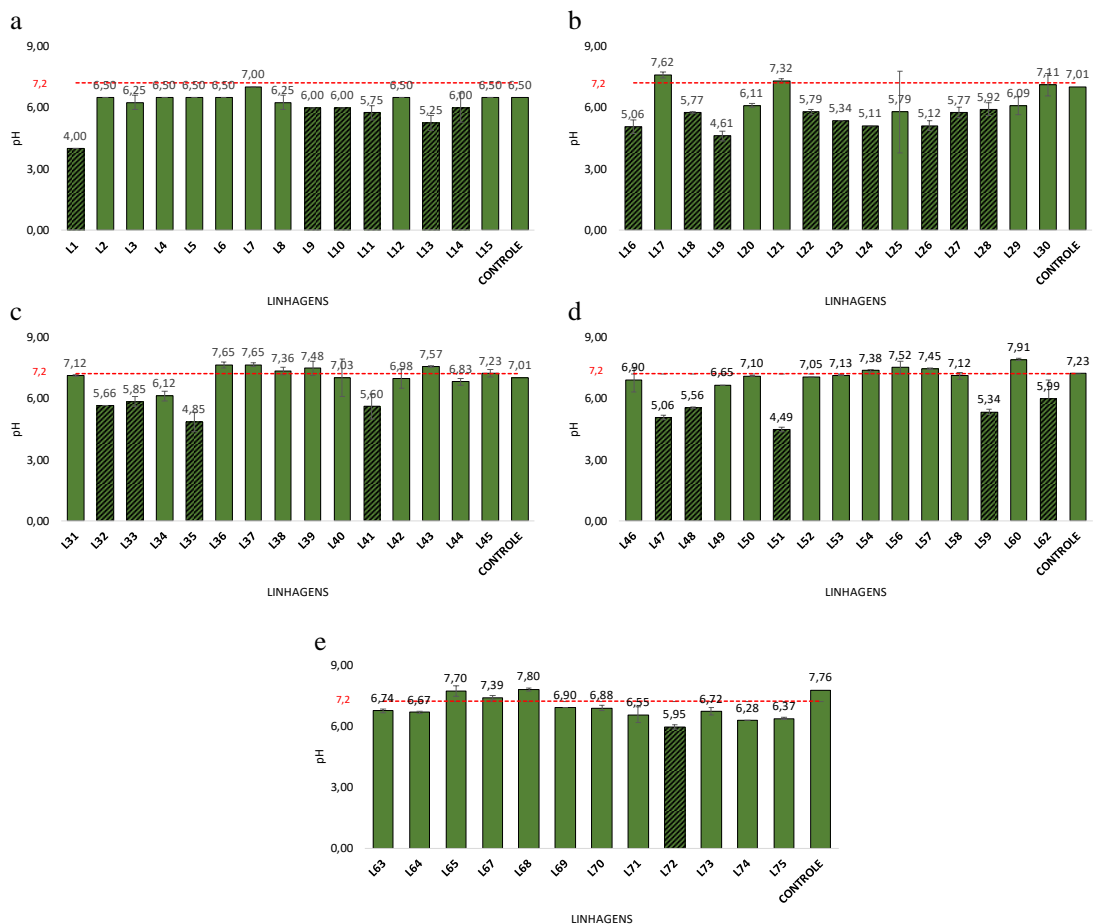


Figura 12. Variação de pH em meio sintético contendo PRC-3 como única fonte de potássio. O meio inoculado com levedura e sem inóculo (controle) foi incubado por 10 dias a 28° C e 200 rpm. O pH inicial do meio (7,2) é indicado pela linha tracejada. A, B, C, D e E representam ciclos 1, 2, 3, 4 e 5 de avaliação. As barras tracejadas

representam as linhagens que se destacaram quanto a capacidade de alterar o pH do meio. O critério utilizado para considerar a linhagem eficiente na redução do pH, foi a redução abaixo de 6.

Já em PRC-4 o total de linhagens de leveduras selecionadas foi de 17, sendo este e PRC-1 os meios em que as leveduras demonstraram menor capacidade de redução do pH. No caso do PRC-4, a hipótese de que a maioria das linhagens testadas não tenha atingido valores de pH abaixo de 6 está relacionada à sua estrutura de origem caracterizada por foliação. A foliação é a estrutura metamórfica que resulta da orientação preferencial entre os minerais na presença de tensão diferencial, esta foliação é caracterizada como xistosidade (USP, s.d).

No primeiro ciclo de avaliação, as leveduras L1, L3, L5, L7, L9, L11, L12 e L13 apresentaram capacidade de redução do pH do meio, sendo L1 a linhagem com menor valor de pH atingido, enquanto o controle atingiu 7,53 (Figura 13a). No segundo ciclo, as linhagens L18, L19, L21, L22, L23, L24 e L26 destacaram-se quanto a essa capacidade, L26 atingiu o menor valor de pH, atingindo 4,81, enquanto o controle atingiu 7,76 (Figura 13b). No terceiro ciclo nenhuma linhagem atingiu o valor de pH tido como critério de seleção (Figura 13c). Já no quarto ciclo, 2 leveduras L59 e L62 reduziram o pH do meio abaixo de 6, atingindo o valor de 4,45 (Figura 13d). Finalmente, o quinto ciclo de avaliação não apresentou nenhuma levedura com capacidade de redução do pH abaixo de 6 (Figura 13e). Ao todo, 72 leveduras foram analisadas em meio PRC-4, desse total apenas 17 satisfizeram o critério de redução de pH abaixo de 6.

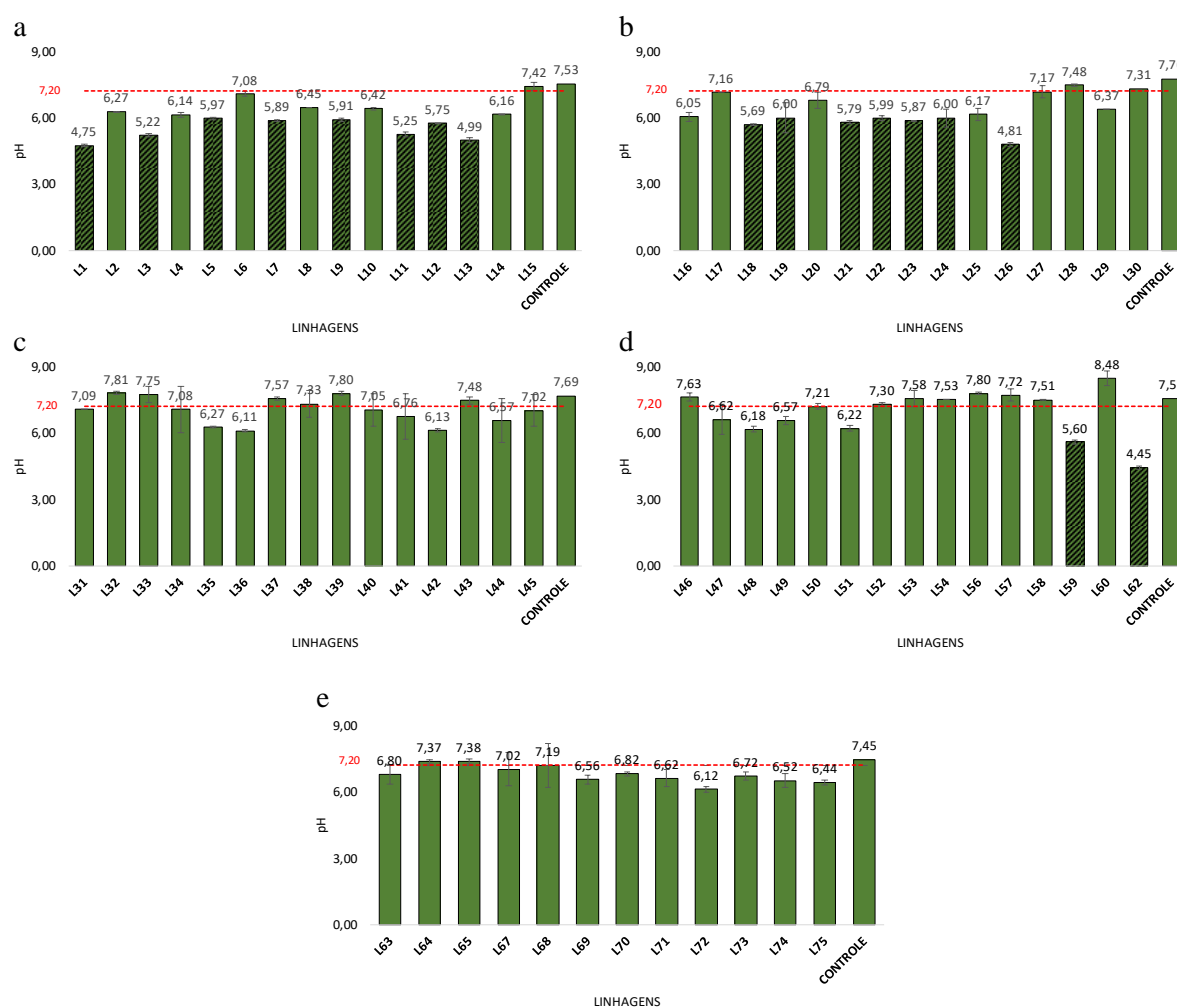


Figura 13. Variação de pH em meio sintético contendo PRC-4 como única fonte de potássio. O meio inoculado com levedura e sem inóculo (controle) foi incubado por 10 dias a 28° C e 200 rpm. O pH inicial do meio (7,2) é indicado pela linha tracejada. A, B, C, D e E representam ciclos 1, 2, 3, 4 e 5 de avaliação. As barras tracejadas representam as linhagens que se destacaram quanto a capacidade de alterar o pH do meio. O critério utilizado para considerar a linhagem eficiente na redução do pH, foi a redução abaixo de 6.

Considerando as 4 diferentes fontes de potássio (PRC-1, PRC-2, PRC-3 e PRC-4) utilizadas para teste de solubilização de K, a Tabela 5 apresenta as linhagens de leveduras que se destacaram quanto à capacidade de reduzir o pH em pelo menos um dos meios.

Tabela 5. Desempenho das linhagens de leveduras quanto à capacidade de alterar o pH do meio. Foram consideradas apenas as linhagens que se destacaram em um ou mais meios. (X) indica leveduras que reduziram o pH abaixo de 6, (valorXX) indica linhagens que quantificaram e reduziram pH, (valor) quantificou e não reduziu e (-) ausência de quantificação e redução do pH

Linhagem	PRC-1	PRC-2	PRC-3	PRC-4	Total de meios com pH reduzido
L1	14,5xx	17xx	22,5xx	7xx	4
L3	40,5xx	7xx	10,5	2,5xx	3
L5	-	-	-	X	1

L7	-	X	-	X	2
L9	-	X	X	X	3
L10	29xx	5,5	9xx	6	2
L11	X	X	X	6,5xx	4
L12	-	X	-	X	2
L13	X	X	X	X	4
L14	-	-	X	-	1
L15	X	-	-	-	1
L16	-	-	X	-	1
L18	X	X	4xx	X	4
L19	X	X	X	X	4
L20	X	X	-	4,5	2
L21	-	-	-	4xx	1
L22	X	X	6xx	2xx	4
L23	-	X	X	X	3
L24	X	X	X	4xx	4
L26	X	4xx	X	X	4
L27	-	X	X	-	2
L28	-	X	X	-	2
L30	X	X	-	-	2
L32	9	6xx	6,5xx	7	2
L33	8	8xx	9,5xx	9	2
L34	-	X	-	-	1
L35	7,5	X	X	-	2
L36	12,5	8,5xx	8	6,5	1
L38	9	X	7,5	3,5	1
L39	8	X	12,5	4	1
L40	3,5	6xx	9,5	4	1
L41	-	-	X	-	1
L42	-	X	-	-	1
L43	1,5	8xx	14,5	18,5	1
L44	-	5,5xx	10,5	12	1
L47	-	X	X	-	2
L48	X	X	X	3	3
L51	X	X	X	4	3
L59	-	X	X	X	3
L60	4,5	5xx	-	-	1
L62	5,5	16,5xx	X	13,5xx	3
L64	X	-	-	-	1
L72	-	-	X	-	1

Um total de 43 linhagens de leveduras destacaram-se por apresentarem uma redução significativa no pH em pelo menos um dos meios. As linhagens L1, L11, L13, L18, L19, L22, L24 e L26 mostraram os melhores resultados, destacando-se em todos os meios contendo fonte de potássio. Outras sete linhagens obtiveram sucesso em 3 meios distintos, são elas: L3, L9, L23, L48, L51, L59 e L62. Onze linhagens apresentaram resultados em 2 meios distintos e em apenas um único meio, 17 linhagens de leveduras.

Houve diferença na quantidade de linhagens de leveduras que foram capazes de afetar o pH dos diferentes meios. Essa diferença pôde ser observada entre os meios e considerou-se a

origem dos meios PRC-2 e PRC-4 para discussão. Enquanto em PRC-2 34 leveduras destacaram-se quanto essa capacidade, em PRC-4 apenas 17, provavelmente isso se dá pela diferença da composição e origem das rochas utilizadas como fonte de potássio. O PRC-2 possui rocha ígnea como origem, enquanto o PRC-4, rocha metamórfica. Assim sendo, a capacidade de alteração do pH das leveduras pode variar dependendo da origem de fonte de rochas utilizadas (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2024).

O PRC-2, derivado de rocha ígnea apresentou o maior número de linhagens que alteraram o pH do meio. Em trabalho utilizando *Torulalpora globosa* para a liberação de K com pó de rocha ígnea ultramáfica, foi observado alteração do pH em decorrência da produção de ácidos orgânicos que pode favorecer a liberação de K proveniente da rocha assim como foi observado no presente estudo (Rosa-Magri et al, 2012). As rochas ígneas têm sua formação pela cristalização de líquidos silicatados, dessa forma consideradas rochas primárias, tendo minerais primários presentes em sua composição (Trueman et al, 2019). A hipótese é que a presença desses minerais acaba tornando a rocha mais suscetível à atividade biológica. As rochas metamórficas têm sua formação provocada a partir de rochas preexistentes (ígneas, sedimentares ou até metamórficas) que sofrem alterações mineralógicas e físicas por conta do aumento de pressão e temperatura. Esse processo é conhecido como metamorfismo e envolve a recristalização de minerais já existentes, mudanças na estrutura e textura da rocha (tamanho e arranjo dos grãos) e também formação de novos minerais através da recombinação de elementos químicos. O processo de metamorfismo decorre da necessidade de ajuste por parte da rocha a novas condições de pressão e temperatura causadas por fenômenos que colocam a rocha em condições físicas diferentes de sua formação (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2024).

Nesse contexto, as linhagens L1, L11, L13, L18, L19, L22, L24 e L26 mostraram-se como as mais promissoras quanto à capacidade de reduzir o pH dos meios. A redução do pH pode ser considerada um indicador de solubilização, uma vez que o principal mecanismo de solubilização é através de ácidos orgânicos sintetizados por microrganismos que acaba acarretando a acidificação da célula microbiana e também do ambiente externo (Perez et al, 2007).

5.2 Solubilização de K

As quantificações de K foram realizadas em leitor portátil de íon K^+ . Os resultados obtidos foram considerados para aquelas amostras acima de 10 mg/L e baixos para amostras abaixo desse valor. A faixa de valor de 10 mg/L foi escolhida por já ser relatada na literatura para bactérias.

Em meio suplementado com PRC-1, 54 leveduras tiveram resultados não detectáveis, enquanto 6 apresentaram resultados maiores que 10 mg/L, enquanto 12 leveduras tiveram valores abaixo de 10 mg/L (Figura 14a). Em PRC-2 55 leveduras tiveram resultados não detectáveis, enquanto 3 apresentaram resultados maiores que 10 mg/L e valores abaixo de 10 mg/L foram alcançados por 14 leveduras (Figura 14b). Em PRC-3, um total de 56 leveduras apresentou resultado como não detectável, enquanto 6 alcançaram resultados acima de 10 mg/L e 10 leveduras apresentaram valores abaixo de 10 mg/L (Figura 14c). Em PRC-4 51 leveduras apresentaram resultado como não detectável, enquanto apenas 3 atingiram valores acima de 10 mg/L e 18 leveduras valores abaixo de 10 mg/L (Figura 14d).

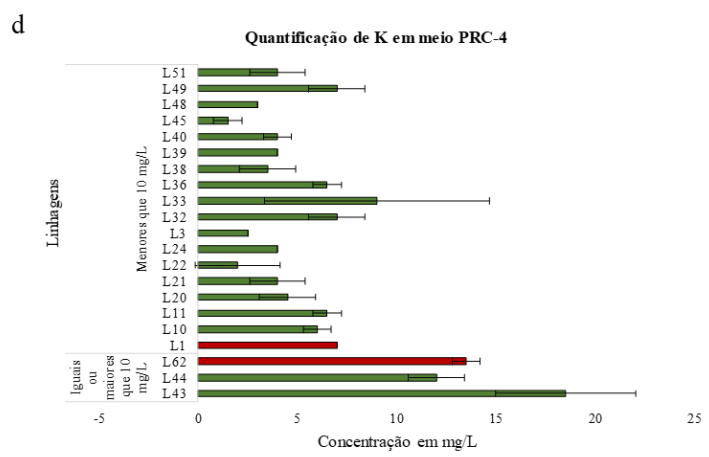
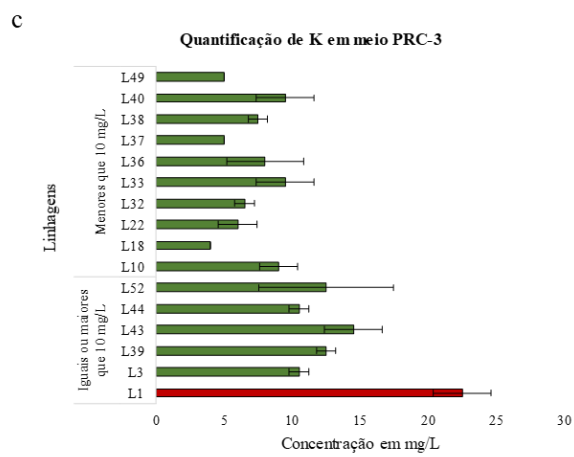
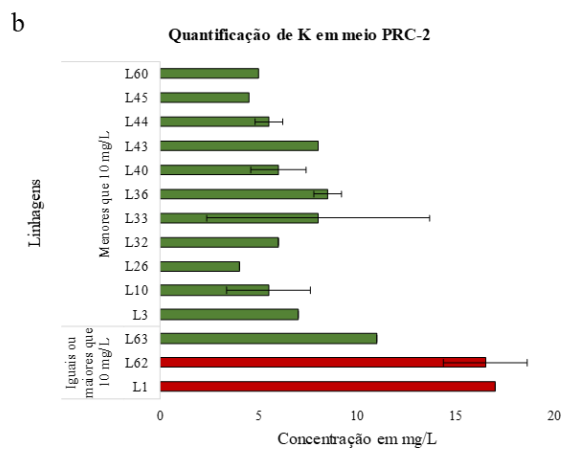
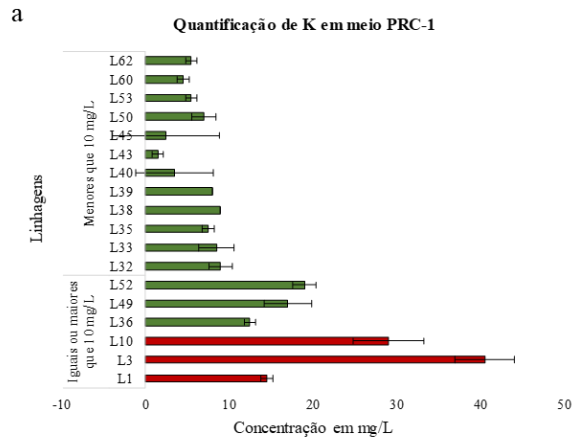


Figura 14. Quantificação de K em sobrenadante de cultura de leveduras. As barras verdes indicam as linhagens que solubilizaram K. As barras vermelhas indicam as linhagens que solubilizaram K e também promoveram redução do pH.

Isolados de 35 leveduras foram testados para solubilização de K. Foi observada uma variação entre 8,11 a 13,21 mg/L para *Pichia anomala* e *Rhodotorula glutinis*, respectivamente. O K quantificado a partir de muscovita em cultivo com período de incubação de 20 dias com maior resultado obtido foi de 13,21 mg/L (*Rhodotorula glutinis*). A inoculação em milho também promoveu efeitos na altura das plantas, no peso seco da raiz e da parte aérea das plantas de milho em casa de vegetação (Mohamed et al 2017).

Em uma pesquisa realizada com bactérias do solo, foi realizada uma seleção quanto a solubilização de potássio. Inicialmente uma triagem foi feita com um total de 211 linhagens. A capacidade de formação de halo foi observada para filtrar as linhagens com potencial. Das linhagens avaliadas, 36 apresentaram potencial. A linhagem *Bacillus mucilaginosus* foi utilizada como linhagem de referência devido sua alta capacidade de solubilização de K. Como resultado, 3 linhagens obtiveram resultados superiores à linhagem de referência, aumentando a solubilidade de K em 61,47%, 58,02% e 41,84%, sendo elas PTG11, SKL51 e SKT41 e resultados de $9,92 \pm 1,05$, $9,75 \pm 0,63$ e $8,34 \pm 0,32$ $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Quanto a levedura adotada como referência, seus parâmetros de solubilidade permaneceram em (23,25%) e valores de $6,72 \pm 0,58$ $\mu\text{g/mL}$ (Gao et al, 2025).

No presente estudo, observa-se a ocorrência de leveduras com quantificações superiores ao relatado, considerando ainda que o período de incubação tenha sido de apenas 10 dias e o pó de rocha utilizado que não foi o mesmo. A linhagem com maior destaque, L3 em meio PRC-1 teve quantificação de 40,5 mg/L (Figura 14a).

Ao todo, 72 linhagens de leveduras foram testadas, sendo que apenas 4 delas promoveram a diminuição do pH do meio abaixo de 6 e obtiveram resultados superiores a 10 mg/L nos diferentes meios, L1(14,5, 17,0, 22,5) PRC-1, PRC-2 e PRC-3, L3(40,5) PRC-1, L10(29,0) PRC-1 e L62(16,5 e 13,5) em PRC-2 e PRC-4 respectivamente. Tal fato contraria o que é relatado na literatura, já que um dos principais mecanismos que estão envolvidos na solubilização dos nutrientes é a produção de ácidos orgânicos disponibilizando o K^+ , envolvendo também liberação de prótons afetando o pH (Pandey et al, 2025). A redução do pH do meio indica a liberação de ácidos orgânicos e prótons pelos microrganismos considerados solubilizadores de K (Meena et al, 2014). No presente estudo a acidificação não foi observada em todas as linhagens, indicando que esse mecanismo não necessariamente é tido como único no processo de solubilização.

A seguir a tabela apresenta diferentes trabalhos acadêmicos e variados tipos de microrganismos testados para a solubilização de potássio.

Tabela 6. Diferentes microrganismos testados quanto a capacidade de solubilização de K.

Espécie	Solubilização mg/L	Origem	Referência
Bactérias			
<i>(Paenibacillus sp., Klebsiella oxytoca, Enterobacter hormaechei)</i>	9,92 ± 1,05, 9,75 ± 0,63 e 8,34 ± 0,32	Solo	Gao et al, 2025
<i>Pseudomonas</i>	49	Solo	Sarikhani et al, 2018
<i>Aspergillus niger C</i>	220	Rocha potássica (origem ígnea)	Lodi et, 2021
<i>Pichia anomala e Rhodotorula glutinis</i>	8,11 a 13,21	Solo	Mohamed et al, 2017
Diferentes isolados de levedura	40,5	Baga de uva	Este trabalho

5.3 Ensaio de solubilização de P

Com objetivo de selecionar as linhagens solubilizadoras de P, foi realizada uma triagem em meio sintético, contendo (fosfato tricálcio) como fonte de P. Por vez, cada ciclo contendo 15 diferentes leveduras foi testado em meio NBRIP. Os valores de pH dos meios foram ajustados para 7,0.

No primeiro ciclo (Figura 15a), L1, L3, L7, L9, L10, L13, L14 e L15 reduziram o pH do meio, sendo L1 a linhagem mais expressiva entre elas, pois o pH do meio chegou a 4,25. No segundo ciclo, nove linhagens apresentaram bons resultados: L16, L18, L19, L20, L21, L22, L23, L24, L25, L26 e L29, sendo a L19 a levedura com pH mais notório entre elas, 4,11, já o pH do controle ficou em torno de 6,9 (Figura 15b). Já no terceiro ciclo não houve observação de linhagens com potencial de redução do pH, acredita-se que possa ter ocorrido uma contaminação, já que o valor de pH do meio oscilou bastante em comparação com os outros

ciclos (Figura 15c). Uma repetição posterior pode ser necessária para se obter os dados do ciclo que se acredita ter contaminado.

O quarto ciclo que compreendeu as linhagens L46 a L62 apresentou 8 leveduras com capacidade de redução de pH: L47, L48, L49, L50, L51, L58, L59 e L62. A linhagem L48 atingiu o menor valor de pH: 4,04 enquanto o controle permaneceu em 5,39. Um fato curioso é que neste ciclo uma única linhagem elevou o valor do pH para 7,45, alcançado pela levedura L60.

Por fim, o quinto ciclo composto pelas linhagens de L63 a L75 indicou 6 linhagens com capacidades solubilizadoras, sendo elas: L64, L67, L69, L71, L73, L74. O controle atingiu valor semelhante ao quarto ciclo, 5,39 enquanto a levedura que mais reduziu pH atingiu valor de 4,09 (L64).

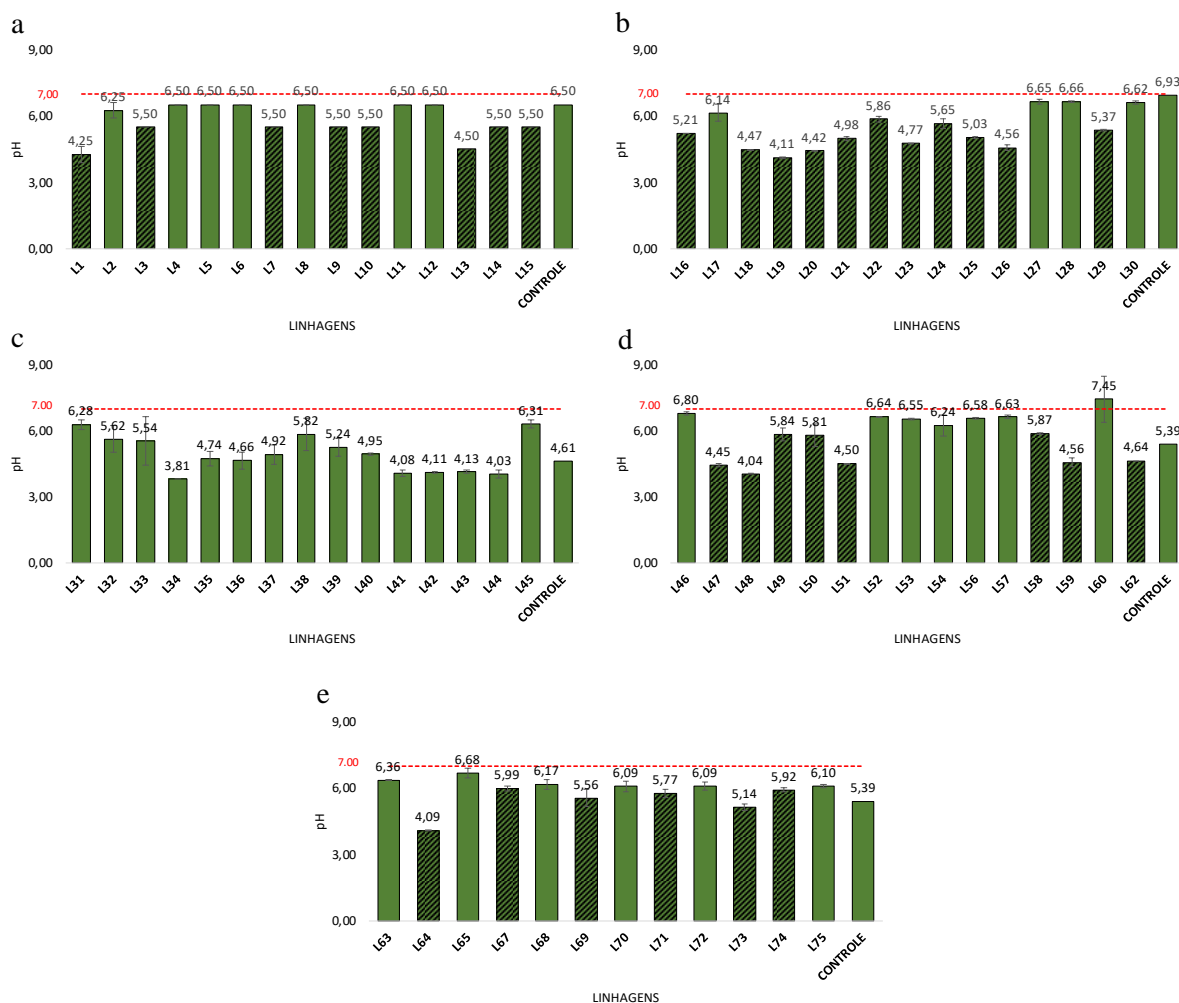


Figura 15 Variação de pH em meio sintético NBRIP como única fonte de fósforo. O meio inoculado com levedura e sem inóculo (controle) foi incubado por 10 dias a 28° C e 200 rpm. O pH inicial do meio foi ajustado para 7 e é indicado pela linha tracejada. A, B, C, D e E representam ciclos 1, 2, 3, 4 e 5 de avaliação. As barras tracejadas representam as linhagens que se destacaram quanto a capacidade de alterar o pH do meio. O critério utilizado para considerar a linhagem eficiente na redução do pH, foi a redução abaixo de 6.

5.4 Quantificação de fósforo em meio NBRIP.

O ensaio colorimétrico da quantificação de fósforo foi realizado com o objetivo de encontrar linhagens com capacidade de solubilização do nutriente. Para isso utilizou-se o fosfato tricálcio como fonte inorgânica.

O processo de quantificação possibilitou observar uma maior correspondência entre redução do pH do meio e a concentração solubilizada (Figura 16). Este fato pode sugerir que a acidificação está envolvida como um dos principais mecanismos de solubilização do fósforo. Esta ocorrência foi observada mais facilmente que em relação aos resultados obtidos da quantificação de potássio, também presente neste trabalho.

Diferentes condições de cultivo foram testadas a fim de avaliar melhores condições tanto para a solubilização de fosfato quanto para a produção de AIA *in vitro*. Em estudo anterior, foi observado que a linhagem *Torulaspora globosa* promoveu redução significativa do pH do meio (Albertini *et al*, 2022).

A seguir a tabela apresenta diferentes trabalhos acadêmicos e variados tipos de microrganismos testados para a solubilização de fósforo.

Tabela 7. Diferentes microrganismos testados quanto a capacidade de solubilização de P.

Espécie	Solubilização mg/L	Origem	Referência
<i>Torulaspora globosa</i>	419,86	Rizosfera de milho	Abertini et al 2022
<i>Paenibacillus</i> sp.	134,5 ± 19,1	Solo	Gao et al, 2025
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	122,17	Solo	Wang et al. 2023
Diferentes isolados de leveduras	3641,25	Baga de uva	Este trabalho

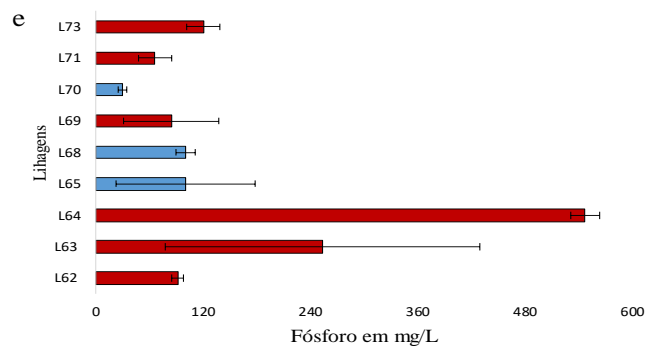
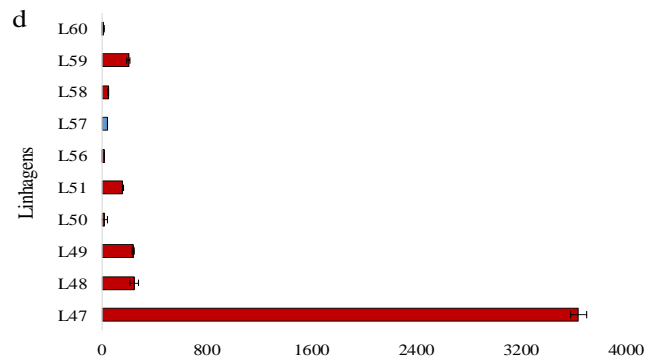
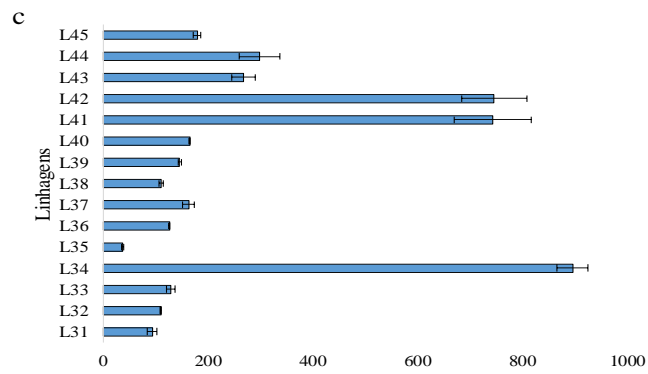
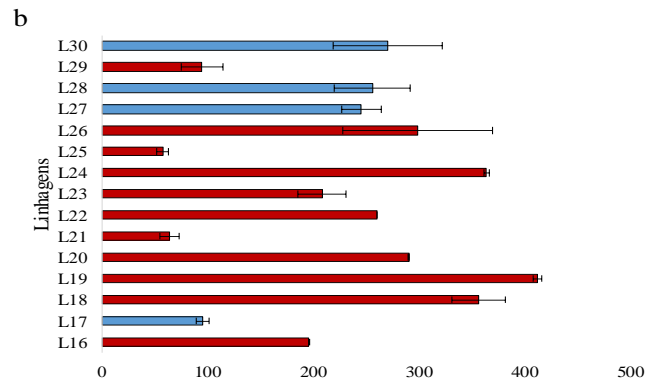
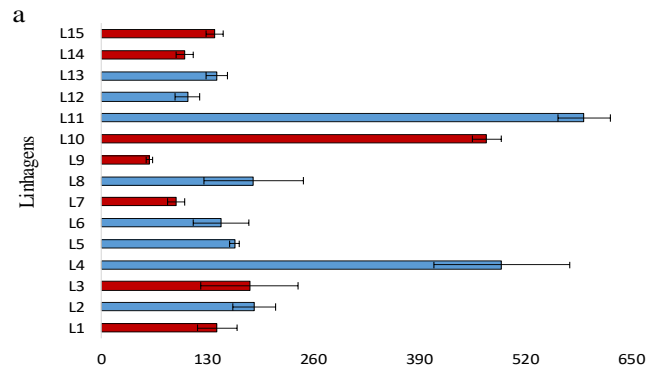


Figura 16. Quantificação de P em mg/L. As barras azuis indicam as linhagens que solubilizaram P. As barras vermelhas indicam as linhagens que solubilizaram P e também promoveram redução do pH.

5.5 Quantificação da produção do fitormônio AIA por indução com L-triptofano

O AIA é uma auxina que promove o alongamento e também a divisão celular, além disso também promove a extensão radicular influenciando diretamente o desenvolvimento vegetal (Lana et al, 2017). Neste trabalho, a produção do AIA foi avaliada através de cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (UHPLC) para quantificar a concentração do fitormônio produzido pelas leveduras. A produção de AIA foi observada em um total de 46 linhagens na presença de L-triptofano. Dentre elas, 18 linhagens demonstraram produção acima de 100 µg/mL (Figura 17).

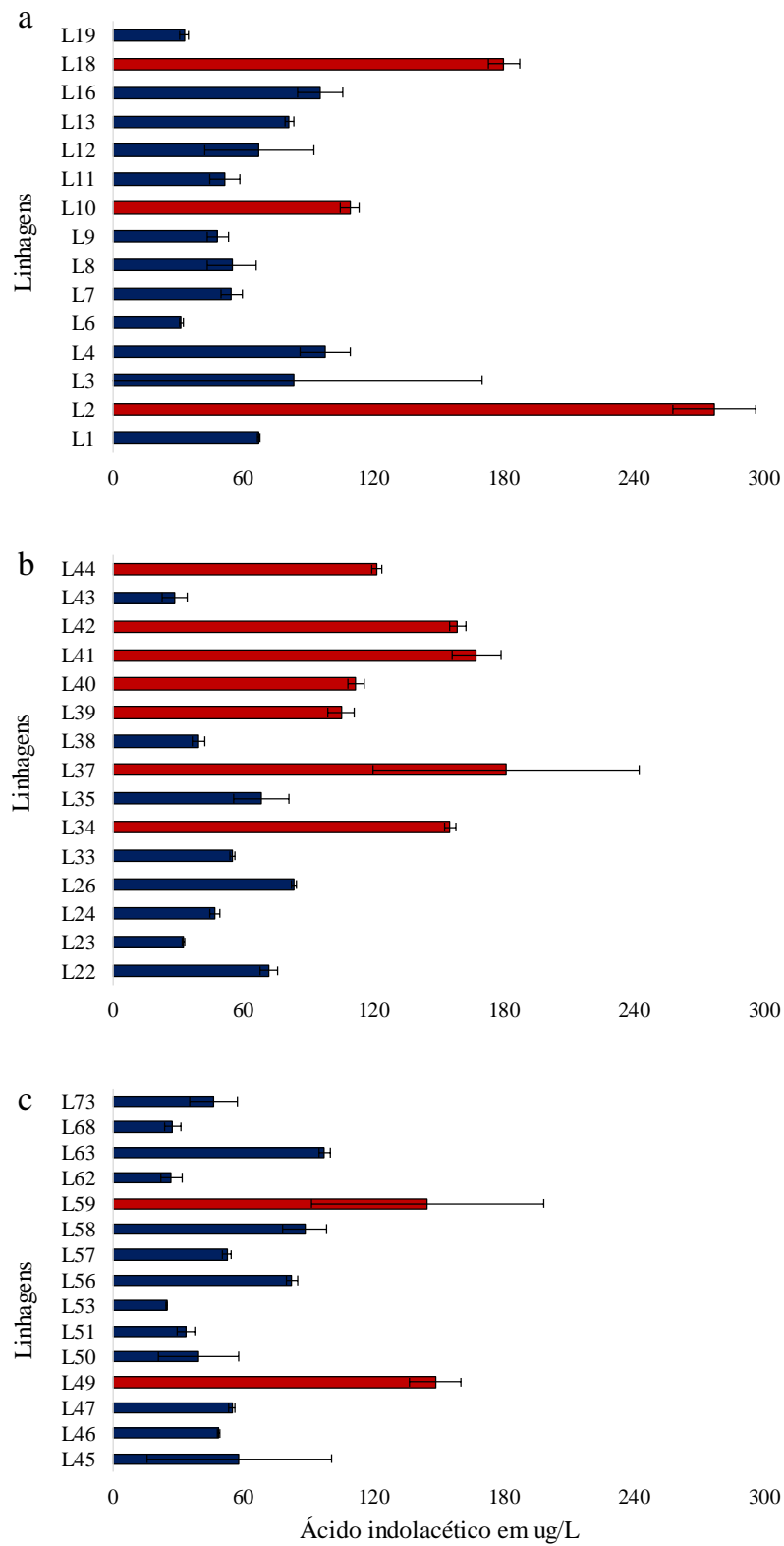


Figura 17. Quantificação do ácido indolacético. As barras azuis escuras indicam as linhagens que foram capazes de produzir AIA e o valor da quantificação em meio enriquecido com L- triptofano e as barras vermelhas a redução de pH.

No presente trabalho também foi observada a produção de AIA em meio sem a adição de L-triptofano (Figura 18), ainda que em menor quantidade comparada ao meio enriquecido, totalizando apenas 8 linhagens. Já em meio suplementado com L-triptofano, 46 linhagens produziram AIA em quantidades superiores ao observado em meio na ausência de L-triptofano.

Recentemente foi realizada uma análise da produção de AIA com meios contendo L-triptofano e também observaram uma maior produção neste meio. No estudo, 42 isolados produziram AIA em meio suplementado com L-triptofano, enquanto em meio na ausência de L-triptofano, apenas 6 (Sothonputtaporn et al, 2024).

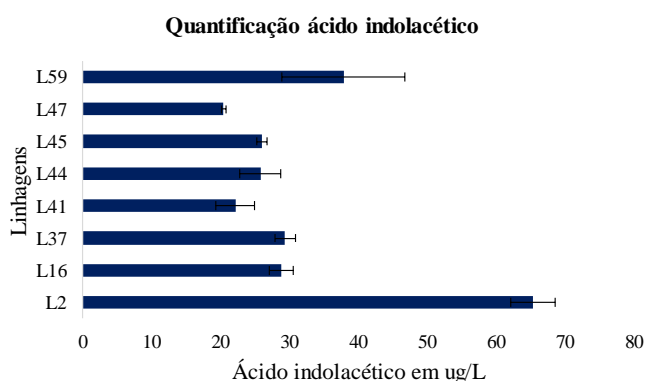


Figura 18. Linhagens que apresentaram produção de AIA na ausência de L-triptofano.

Em um estudo, 23 tipos de leveduras foram isoladas do solo no Chile para avaliação quanto a capacidade de produzir AIA. O cultivo foi realizado em meio YPD com e sem a adição de L-triptofano e mantidos por um período de uma semana, em condições de escuro e a quantificação de AIA foi feita por espectrometria. Após o período de cultivo, a produção de AIA pelas leveduras ficou entre 0,8 e 3,3 µg/mL de AIA sem a adição de triptofano, ocorrendo um aumento após a adição do mesmo. A linhagem *Rhodotorula babjevae* atingiu maior valor, acima de 3,0 µg/mL, enquanto *P. membranifaciens* obteve valor abaixo de 1,0 µg/mL. Assim como foi observado nesse estudo, houve um aumento na produção de 16 linhagens pela adição de triptofano (Carvajal et al, 2024).

A tabela a seguir apresenta a produção de AIA por diferentes linhagens de levedura e em meios com e sem a suplementação de L- triptofano.

Tabela 8. Produção de AIA com e sem a suplementação de triptofano.

Levedura	Produção de AIA (µg/L)	Meio utilizado	Referência
<i>Torulaspora globosa</i>	318,8-357,8	Melaço de cana-de açúcar enriquecido com triptofano	Bispo et al, 2023
Vária leveduras-maior produção (<i>Aureobasidium pullulans</i>)	147,4 (±2,7)	Meio YPD enriquecido com L- triptofano	Sun et al, 2014
<i>Rhodotorula paludigena</i>	76,220	Meio YPD enriquecido com L- triptofano	Peng et al, 2018
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	27,830	Meio YPD com e sem	Fernandez et al, 2020
* <i>L. thermotolerans</i>	11,120	suplementação de L-triptofano	
L2	277, 7	Meio YPD com e sem	Este trabalho
	65,4	suplementação de L-triptofano	

Observe que apenas um trabalho apresentou o valor quantificado de AIA por *L. Thermotolerans*(*) em meio na ausência de L-triptofano, a mesma produziu 9 vezes mais o fitormônio que na presença de meio enriquecido com triptofano. Os resultados de quantificação para esta levedura em meio enriquecido com triptofano não foram observados (Fernandez et al, 2020).

O presente trabalho demonstrou uma produção superior ao relatado, indicando capacidade de sintetizar AIA em condições de ausência de L-triptofano. A linhagem L2 atingiu um valor de 65,4 em meio ausente da adição de triptofano.

5.6 Ensaio de Germinação

Paralelamente ao experimento em meios sintéticos, 7 linhagens de leveduras foram selecionadas para teste de ensaio de germinação, a partir de um screening previamente realizado no grupo de pesquisa. Empregando-se ensaios colorimétricos para quantificação de fósforo e

AIA foi possível selecionar as linhagens L7, L20, L38, L51, L57 e L64, com potencial capacidade de solubilizar fósforo e produzir fitormônio em meio sintético. A partir desses resultados, um ensaio de germinação *in vitro* foi feito com o objetivo de avaliar a influência dessas linhagens na germinação e crescimento inicial de sementes de canola.

A figura 19 mostra exemplos de plântulas entre os tratamentos testados, a partir da escolha de uma plântula representativa de cada tratamento. Pode-se destacar diferenças na extensão radicular, presença de raízes secundárias e aparência geral entre os tratamentos testados.



Figura 19. Plântulas representativas de cada tratamento mostrando o efeito da inoculação de leveduras.

A germinação das sementes foi acompanhada diariamente durante 7 dias. As sementes começaram a germinar no dia seguinte e todas já haviam germinado em 3 dias. A porcentagem de germinação (Figura 20) não alterou entre os tratamentos, ficando próxima a 100 %. Não houve diferença entre os tratamentos e os controles testados.

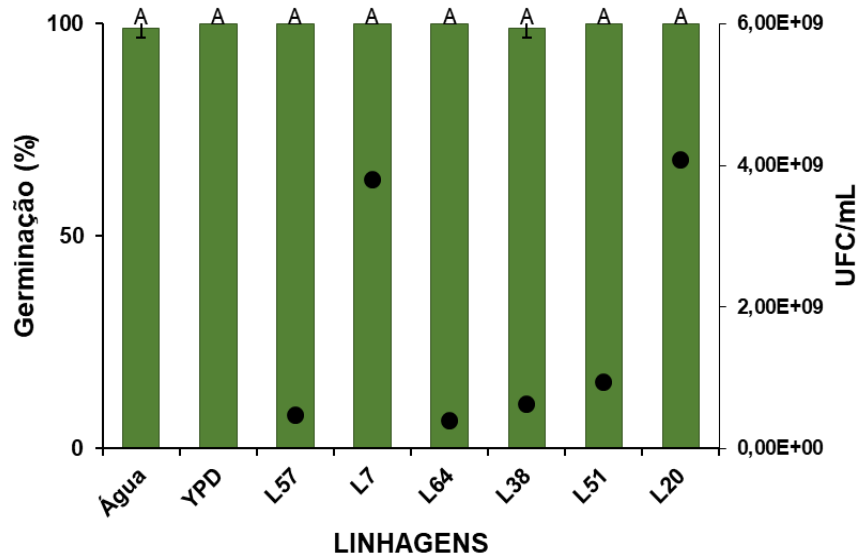


Figura 20. Efeito da inoculação de leveduras no percentual de germinação de sementes de canola. As bolas pretas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam % germinação em 7 dias.

Quanto ao índice de velocidade de germinação, também não houve diferença estatística entre os controles e os tratamentos testados, indicando a ausência da influência das leveduras testadas:

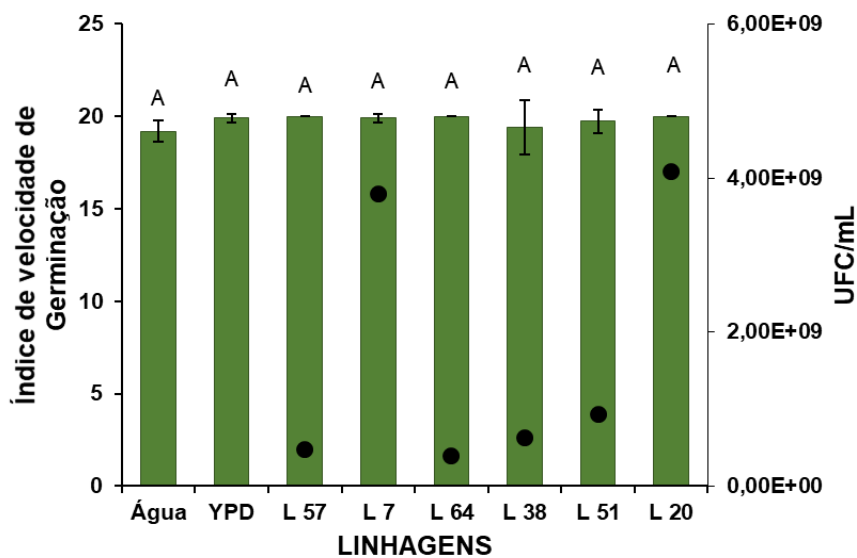


Figura 21. Efeito da inoculação de leveduras na velocidade de germinação. As bolas pretas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam a velocidade de germinação em 7 dias.

A massa seca tanto da parte aérea quanto da raiz das plântulas de canola foi obtida após secagem por 48 horas. O resultado observado em YPD no quesito parte aérea apresenta

desvio padrão alto possivelmente por conta do alto valor atingido em uma de suas replicatas. A análise estatística confirma que não houve diferença significativa entre as leveduras e os controles (Figura 22).

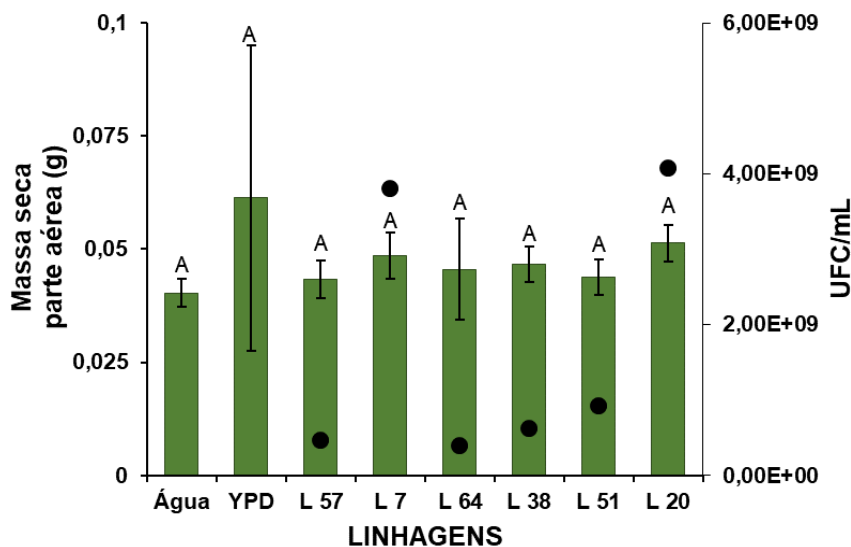


Figura 22. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da parte aérea das plântulas de canola. As bolas pretas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o peso em gramas da parte aérea em 7 dias.

Já a massa da radícula mostra-se como resultado mais expressivo, uma vez que os tratamentos testados promoveram um maior adensamento de raiz em relação aos controles (água e YPD), o que é favorável ao desenvolvimento da planta, considerando a importância de um sistema radicular amplo. Como destaque, a linhagem L7 apresentou valor mais elevado de massa seca de raiz. A linhagem L51 apresentou pouco desenvolvimento radicular, justificável pela pouca presença de raízes secundárias, igualando-se aos controles. Nesse parâmetro, com exceção da linhagem L51, todas as leveduras testadas apresentaram melhores resultados em relação aos controles (Figura 23). Analisando a figura 19, é possível observar a presença de pequenas raízes laterais nas plântulas inoculadas com as linhagens L7 e L38, podendo este fato ter influenciado na massa seca da raiz.

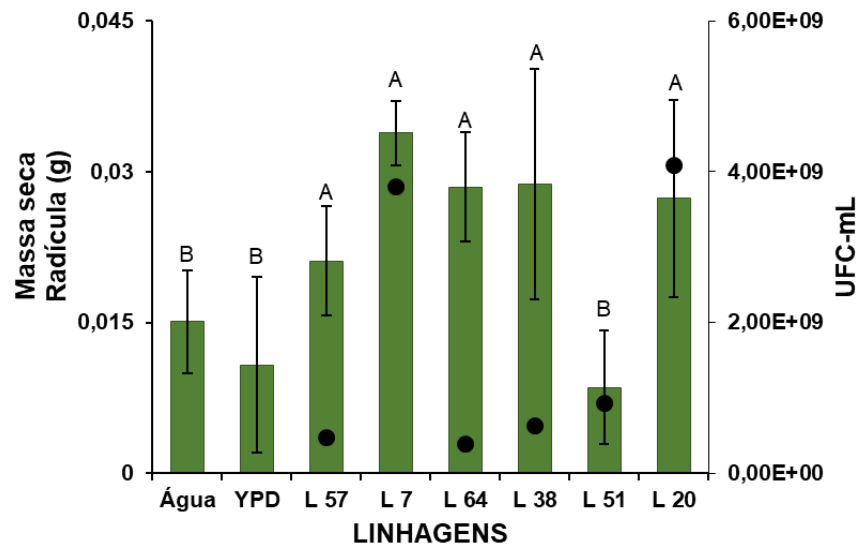


Figura 23. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da raiz de plântulas de canola. As bolas pretas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o peso em gramas da raiz em 7 dias.

Uma razão entre a raiz e a parte aérea foi feita e estatisticamente nenhum tratamento apresentou alguma vantagem em relação ao outro. Esse fator permite saber para que parte da planta está sendo alocado mais energia (Figura 24).

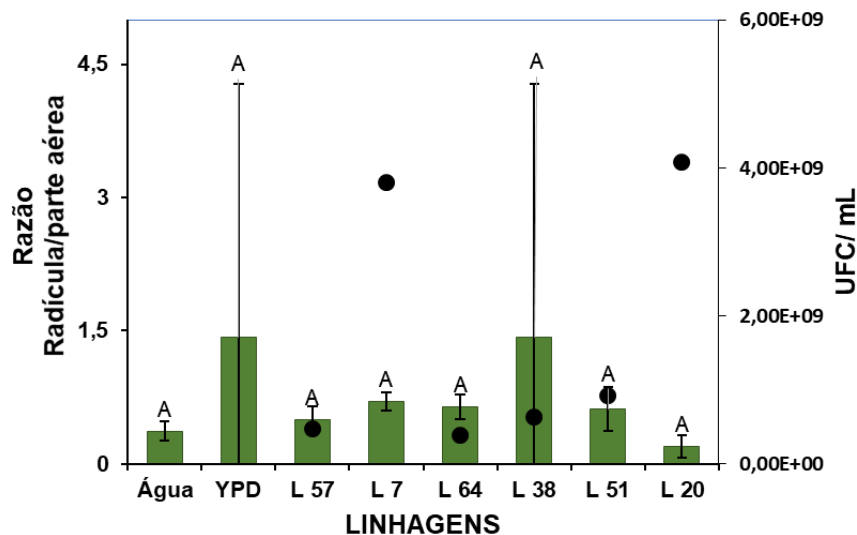


Figura 24. Razão apresentada entre a raiz e a parte aérea. As bolas pretas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o resultado da razão entre raiz e parte aérea em 7 dias.

Através do comprimento da parte aérea nota-se que as linhagens L7, L57, L64 e L38 mostraram melhores resultados que o controle (água), enquanto as linhagens L51 e L20 apresentaram desvantagens em relação aos demais tratamentos (Figura 25).

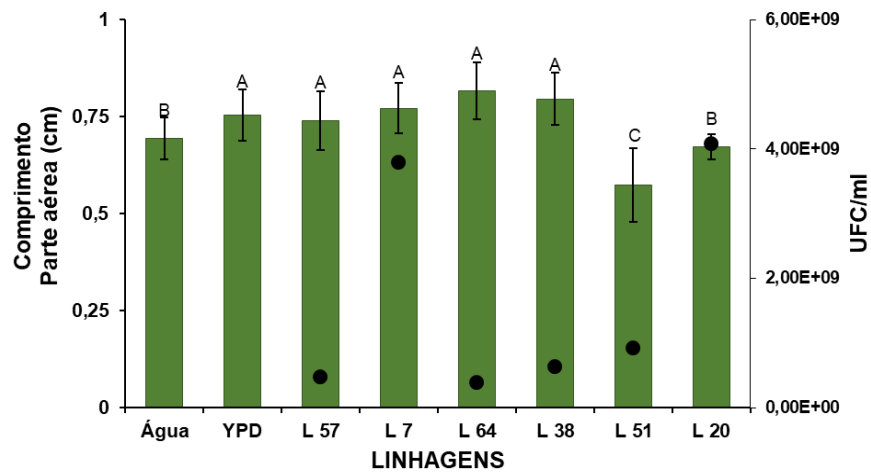


Figura 25. Efeito da inoculação de leveduras no comprimento da parte aérea de plântulas de canola. As bolas pretas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o comprimento em centímetros da parte aérea atingido em 7 dias.

A análise do comprimento da raiz permite confirmar o baixo desempenho das linhagens L51 e L20 que tiveram sua extensão radicular um tanto comprometida (Figure 26). Esse fator pode justificar a baixa performance dos outros critérios analisados.

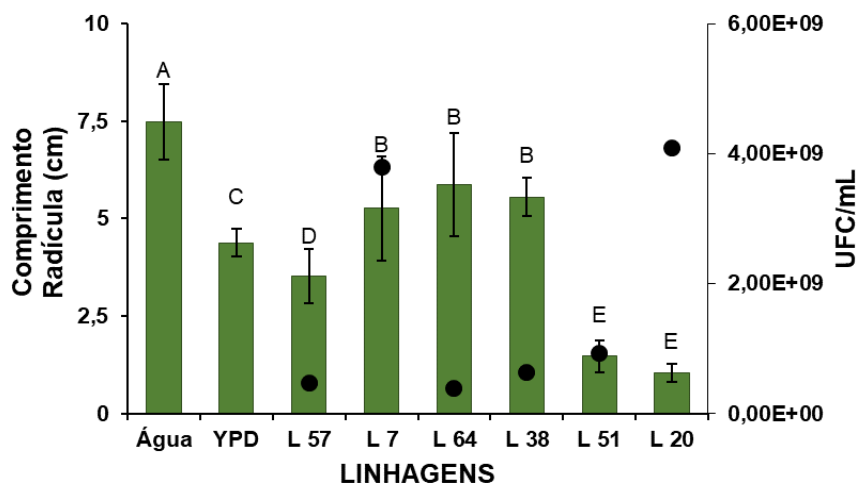


Figura 26. Efeito da inoculação de leveduras no comprimento da raiz de plântulas de canola. As bolas pretas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o comprimento em centímetros da raiz atingido em 7 dias.

O índice de vigor da planta, o qual considera a taxa de germinação e desenvolvimento da plântula, permite conhecer o quão viável a semente está para germinar e se tornar uma planta com alto vigor, este fator é extremamente importante em campo considerando a uniformização

do plantio. As linhagens L7, L64 e L38 atingiram melhores resultados comparadas ao controle YPD (Figura 27).

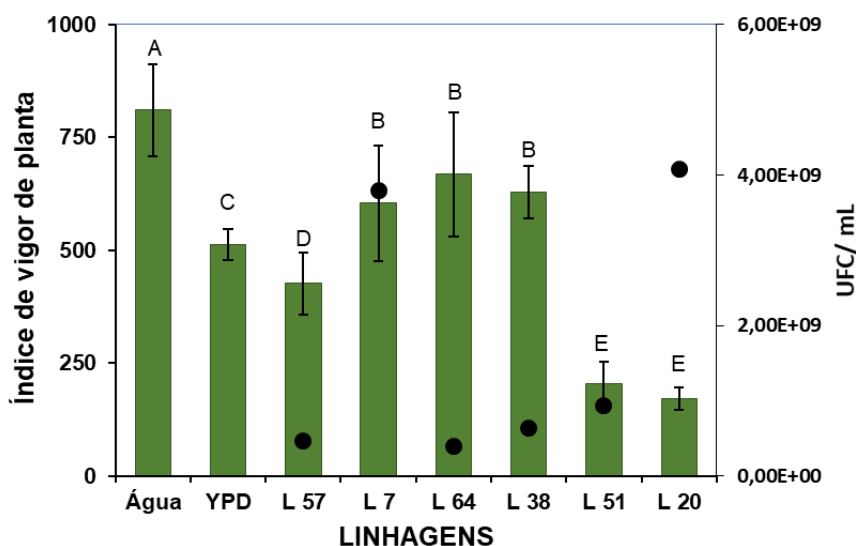


Figura 27. Efeito da inoculação de leveduras no vigor das plântulas de canola. As bolinhas pretas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o vigor atingido em 7 dias.

As linhagens que apresentaram menor desempenho, L51 e L20, pertencem à mesma espécie, ambas foram coletadas de substrato de fruto da baga de uva e da mesma região, Santa Catarina, Campo Belo do Sul, Brasil. O desempenho atingido pela espécie foi baixo mostrando-se como prejudicial para a cultura em um primeiro momento. É possível observar (Figura 19) o baixo desenvolvimento radicular das plântulas representativas, quesito este que pode ter influenciado o desempenho nos demais critérios analisados. As linhagens L7, L38 e L64 apresentaram os mesmos padrões de resultado.

A linhagem L7 foi considerada a melhor linhagem para a cultura considerando seu desempenho nos critérios: comprimento radicular e massa seca da raiz. No aspecto geral, a mesma linhagem apresentou bom desempenho na capacidade de alteração do pH em dois meios, PRC-2 (não detectável) e fósforo (91,3 mg/L).

6. Critério de seleção das leveduras para casa de vegetação

Para avaliar a influência da inoculação de leveduras no crescimento e desenvolvimento da canola, as linhagens de leveduras foram inoculadas para OD₆₀₀ inicial de 0,5 e cultivadas por 48 horas.

O bioensaio foi conduzido em dois ciclos distintos, sendo a escolha das linhagens utilizadas em cada etapa baseada em critérios específicos. As linhagens de microrganismos usadas para realização do primeiro ciclo do bioensaio em casa de vegetação foram selecionadas considerando sua capacidade de solubilização de potássio e fósforo (Tabela 9) nos diferentes meios sintéticos de cultivo. Com base nos resultados que foram obtidos, um ranking de desempenho foi realizado para selecionar os microrganismos que obtiveram as maiores notas. A partir desse critério, cada organismo poderia atingir nota 10 conforme seu desempenho, sendo 5 meios testados e considerando peso 2 para cada um. Entre as linhagens de leveduras, 14 foram selecionadas por atingirem nota igual ou superior a 4.

Tabela 9. Ranking de classificação das linhagens de leveduras que atingiram notas superiores a 4.

Linhagem	Solubilização K				Solubilização P	Nota
	PRC-1	PRC-2	PRC-3	PRC-4	NBRIP	
L1	2	2	2	1	1	8
L3	2	1	2	1	1	7
L10	2	1	1	1	1	6
L32	1	1	1	1	0,5	4,5
L33	1	1	1	1	0,5	4,5
L36	2	1	1	1	0,5	5,5
L39	1	1	2	1	0,5	5,5
L40	1	1	1	1	0,5	4,5
L43	1	1	-	2	0,5	4,5
L44	-	1	2	2	0,5	6
L45	1	1	1	1	0,5	4,5
L49	2		1	1	1	4
L52	2		2		0,5	4,5
L62	1	2		2	1	6

Os critérios para a pontuação atribuída é apresentado na próxima tabela:

Tabela 10. Critérios de pontuação.

Solubilização de K	Solubilização de P
Pontuação 2: Quantificações superiores a 10 mg/L	Pontuação 1: Reduziu o pH
Pontuação 1: Quantificações inferiores a 10 mg/L	Pontuação 0,5: Não reduziu o pH

Quanto ao segundo ciclo, a seleção considerou as linhagens que foram utilizadas previamente no ensaio de germinação e também aquelas que apresentaram os melhores resultados no ensaio de quantificação do fitormônio AIA (Figura 28), a fim de avaliar o desempenho desses microrganismos em casa de vegetação.

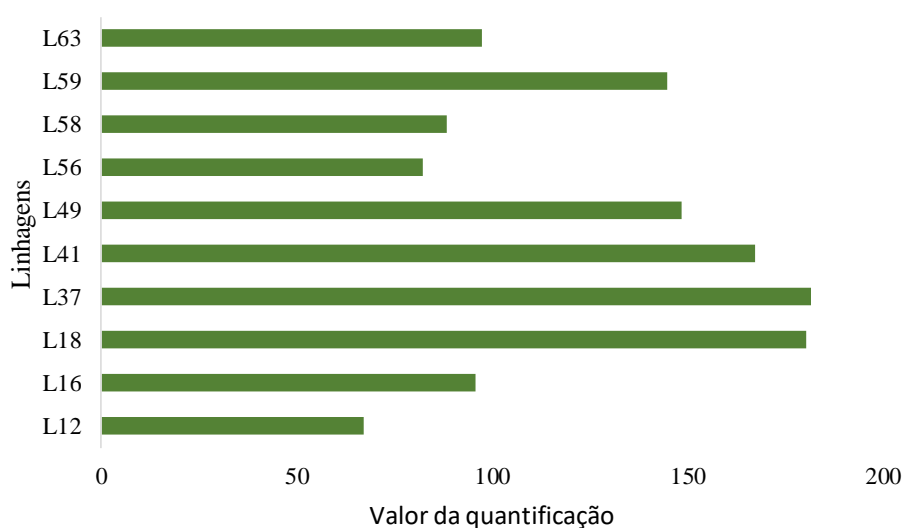


Figura 28. Ranking de classificação das linhagens de leveduras que atingiram valores de quantificação superiores a 50 ug/mL na produção de AIA.

A partir dessa seleção, as linhagens de leveduras foram conduzidas para ensaio em casa de vegetação com o objetivo de observar a promoção de crescimento vegetal. Para tanto, os parâmetros contemplados para análise foram: teor de clorofila, diâmetro, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e razão entre raiz e parte aérea.

6.1 Primeiro ciclo de plantio

O primeiro ciclo de plantio foi composto por um total de 11 linhagens além dos controles: água e YPD, totalizando 13 tratamentos. O plantio foi realizado em blocos

casualizados e a inoculação foi realizada 2 vezes, após a planta atingir um par de folhas verdadeiras e após 15 dias. Cinco parâmetros previamente mencionados foram analisados: teor de clorofila, diâmetro, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e razão entre raiz e parte aérea. A partir dos resultados obtidos, foi realizada a análise estatística através do método Scott Knott.

O primeiro parâmetro analisado foi o teor de clorofila, realizado por meio do equipamento Chlorophyll meter, SPAD- 502 Plus. As leituras foram feitas no dia antecedente à coleta em casa de vegetação. Considerando as 11 leveduras testadas, não foi possível observar diferença estatística em relação aos controles (Figura 29), evidenciando que nenhum dos tratamentos em teste se destacou em relação a outro e aos controles utilizados.

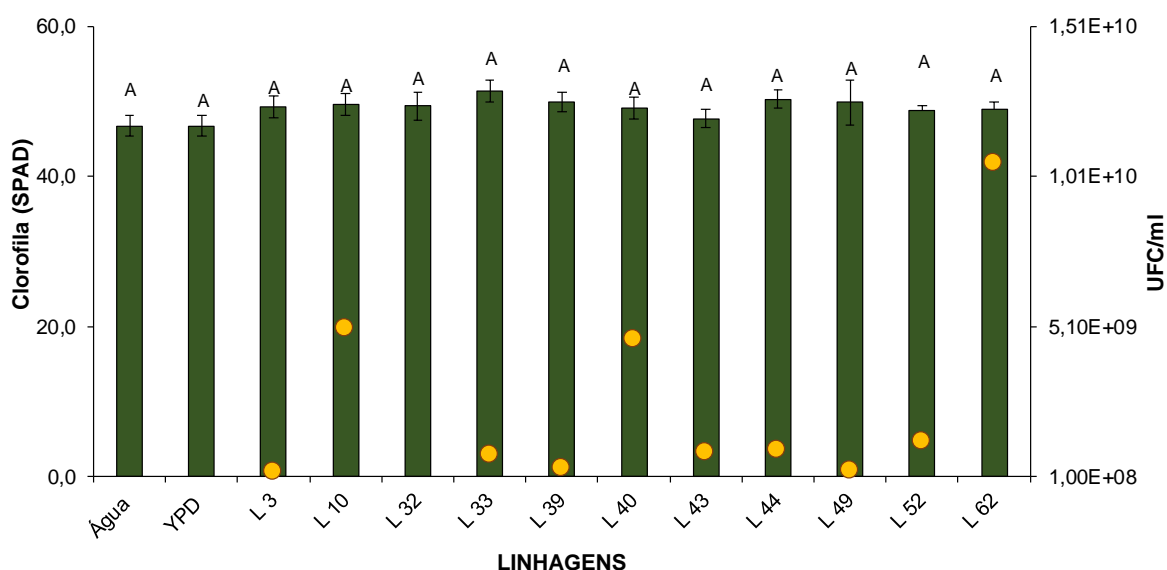


Figura 29. Efeito da inoculação de leveduras no teor de clorofila de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o teor de clorofila atingido durante o plantio.

Outro parâmetro analisado foi o diâmetro do caule que mostrou superioridade de 6 tratamentos em relação aos controles utilizados (Figura 30). Entre os tratamentos houve variação de 2,86mm (L10) a 3,77mm (L62). A linhagem L62 atingiu o valor mais alto, 3,77mm. Os controles água e YPD foram semelhantes estatisticamente entre si. Esses resultados permitem concluir que considerando os 11 tratamentos que foram avaliados, 6 (L39, L43, L44, L49, L52 e L62) influenciaram positivamente no parâmetro de diâmetro do caule.

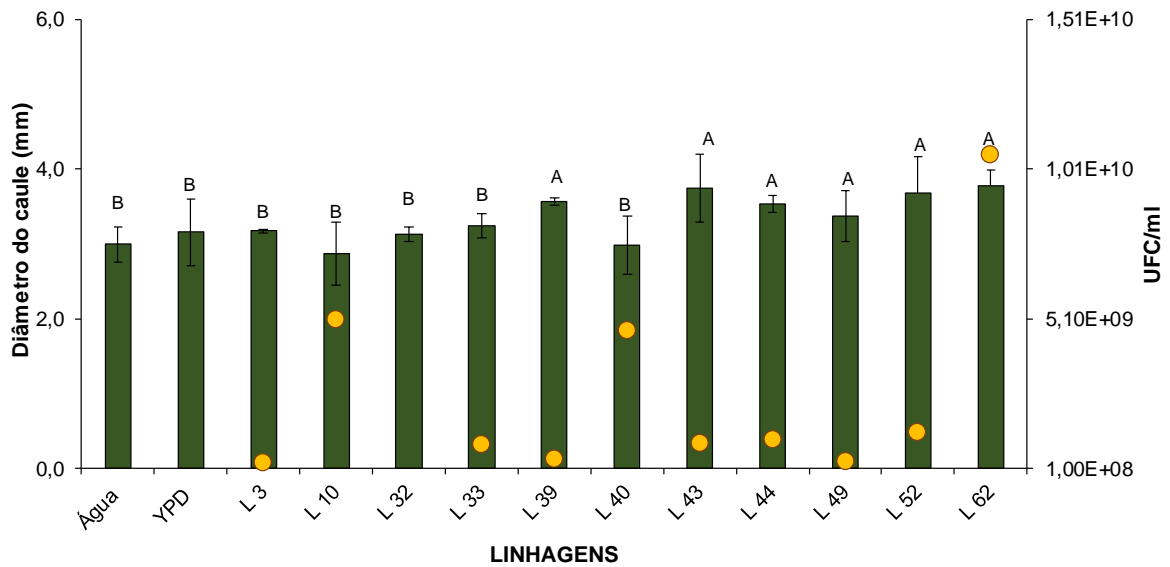


Figura 30. Efeito da inoculação de leveduras no diâmetro de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o comprimento em milímetros atingido durante o plantio.

Quanto à massa seca da raiz, a análise estatística indicou que não houve diferença entre controles e os tratamentos avaliados, indicando ausência de efeito significativo na massa seca da raiz em decorrência da utilização dos inóculos (Figura 31).

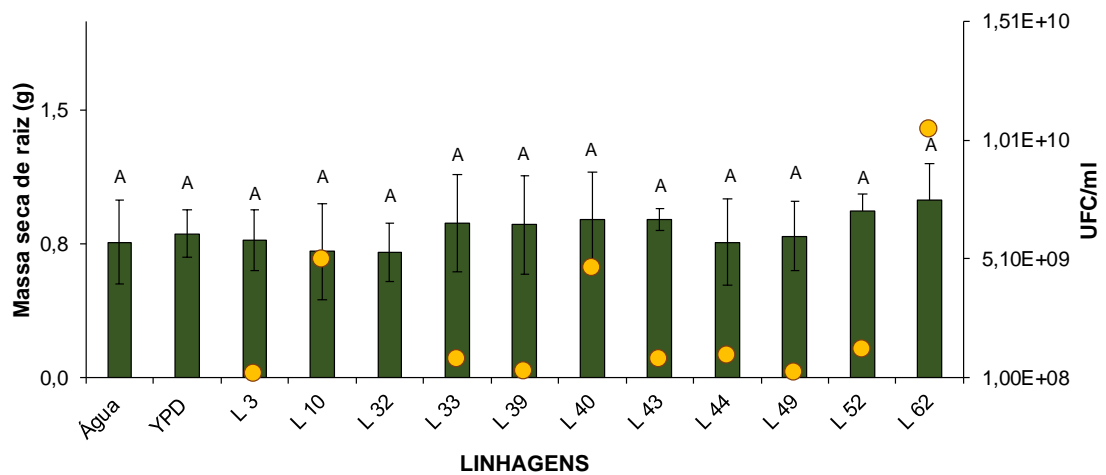


Figura 31. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da raiz de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o peso em gramas atingido durante o plantio, após secagem em estufa 60° C.

Os resultados da massa seca da parte aérea indicaram a ausência de diferença estatística entre os tratamentos e controles empregados, sendo os inóculos testados incapazes de influenciar na massa da parte aérea (Figura 32).

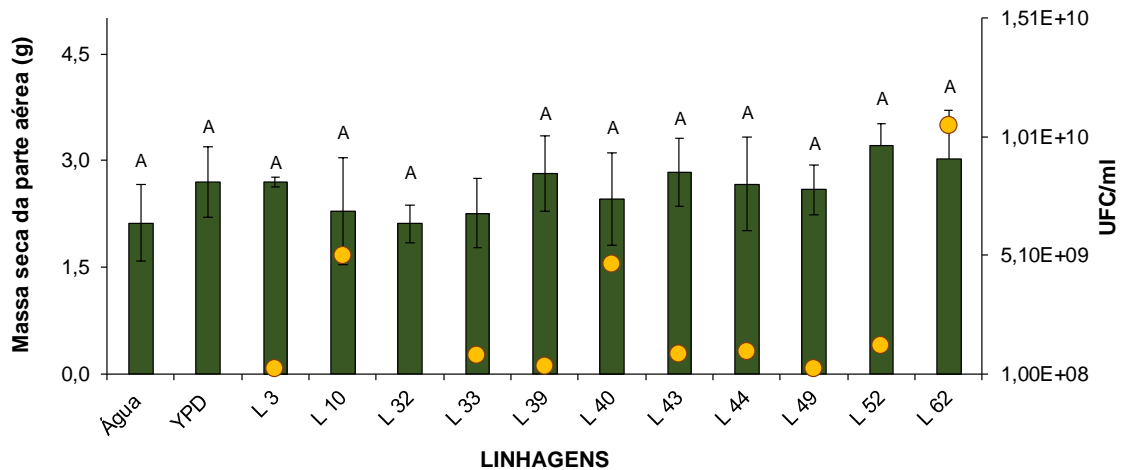


Figura 32. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da parte aérea de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o peso em gramas atingido durante o plantio, após secagem em estufa 60° C.

Por fim, uma relação entre a raiz e a parte aérea foi realizada com o objetivo de entender como os recursos de crescimento entre sistema radicular e aéreo são distribuídos pela planta, dessa forma os valores mais altos indicam um maior investimento em raiz quanto ao inverso em parte aérea. A análise da razão raiz/parte aérea, não apresentou diferença significativa, sendo assim, não é possível considerar as estratégias por parte da planta na alocação da biomassa (Figura 33).

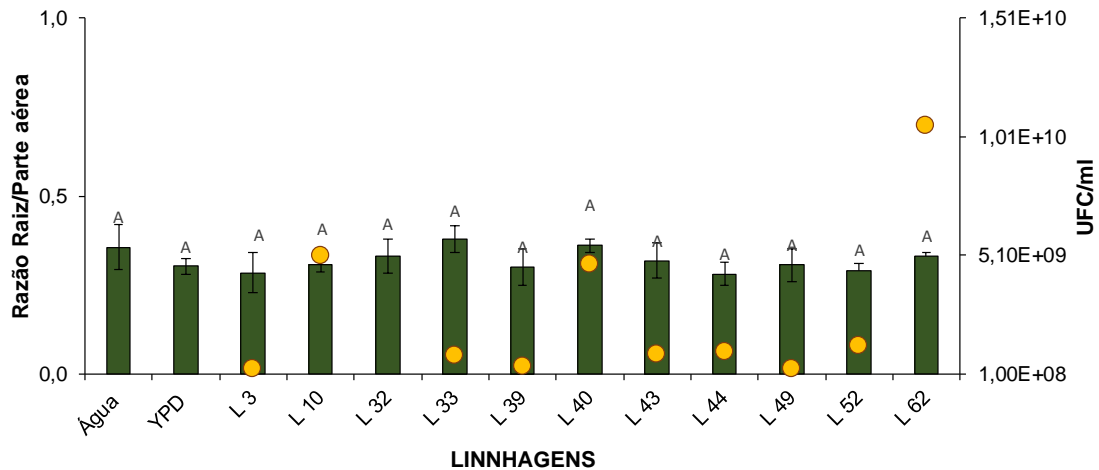


Figura 33. Efeito da inoculação de leveduras na razão entre raiz/parte aérea. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o valor atingido entre a razão raiz/parte aérea.

6.2 Segundo ciclo de plantio

Enquanto o primeiro ciclo de plantio foi composto por 11 tratamentos e 2 controles, o segundo ciclo teve um total de 15 tratamentos avaliados além dos controles utilizados.

Os procedimentos que foram adotados para a execução do primeiro ciclo do plantio, foram mantidos para manter uma uniformidade entre os resultados. Dessa forma, foi respeitada a quantidade de dias de plantio, além dos intervalos e números de aplicações dos inóculos contendo as leveduras. A avaliação do teor de clorofila seguiu as mesmas regras do primeiro ciclo, sendo as leituras realizadas um dia antes da coleta. Os critérios que foram avaliados também permaneceram os mesmos.

O segundo ciclo de plantio mostrou que, no parâmetro teor de clorofila, diferentemente do que foi observado no primeiro, as linhagens (L12, L16, L18, L20, L37, L41, L49, L51, L56, L57 e L64) apresentaram diferença estatística comparadas aos tratamentos (L58, L59, L63 e L70). Porém em relação ao controle YPD essa diferença não foi observada, não sendo possível concluir sobre sua influência no teor de clorofila (Figura 34).

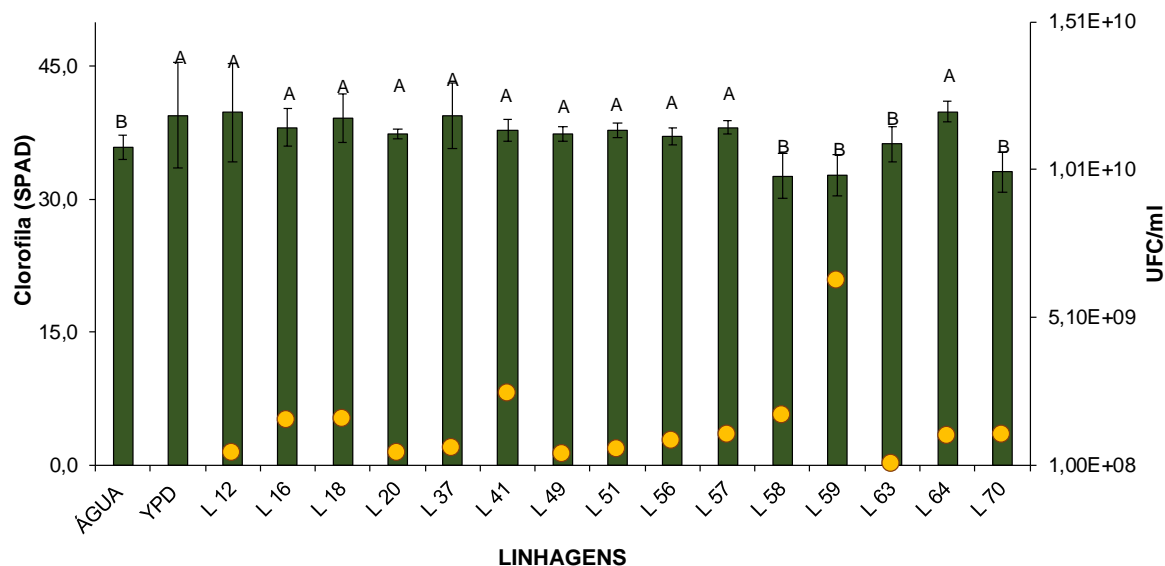


Figura 34. Efeito da inoculação de leveduras no teor de clorofila de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o teor de clorofila atingido durante o plantio.

O diâmetro do caule que também indicou resultados positivos no primeiro ciclo de plantio, teve os tratamentos (L12, L18, L20, L41, L49, L51, L56, L57, L58, L64 e L70) apresentando resultados estatísticos superiores em relação aos tratamentos restantes e aos controles água e YPD, contribuindo para um maior espessamento do caule (Figura 35). Para a canola, o diâmetro impacta diretamente na produtividade e rendimento da cultura. O acamamento afeta comumente a colza e influencia diretamente a qualidade das sementes. O acamamento causa o deslocamento do caule em relação a sua posição vertical original. Nesse sentido, o aumento da resistência do caule pode tornar a planta resistente ao acamamento devido sua importância estrutural (Li et al, 2018).

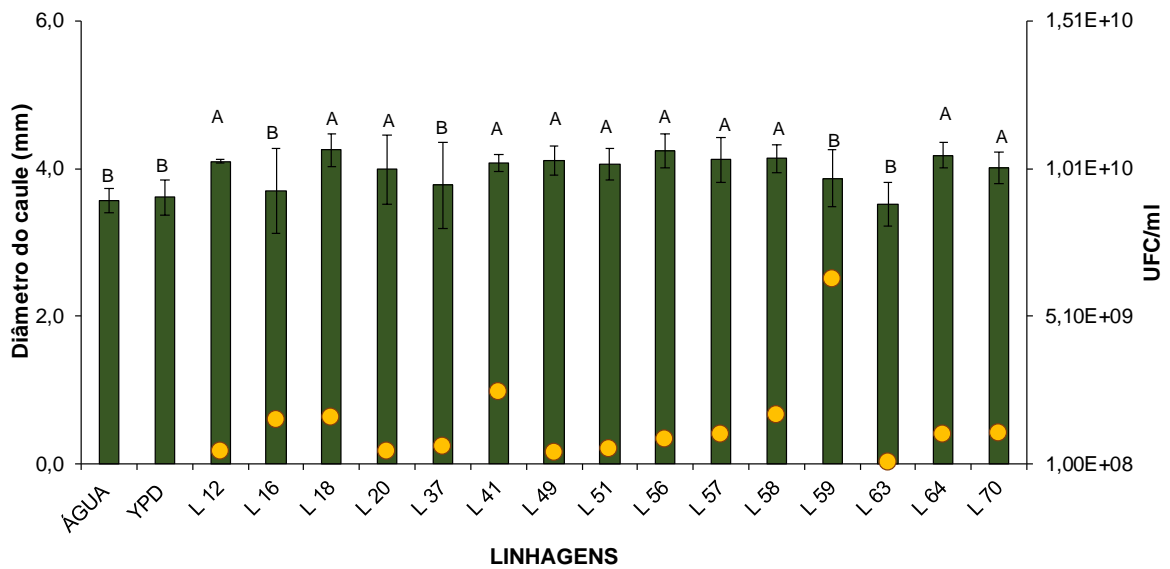


Figura 35. Efeito da inoculação de leveduras no diâmetro de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o comprimento em milímetros atingido durante o plantio.

Assim como o que foi observado no primeiro ciclo de plantio, neste também foi observada a ausência de diferença estatística entre os 15 tratamentos avaliados e também em relação aos dois controles utilizados (ÁGUA) e (YPD) (Figura 36). Assim o efeito da inoculação de leveduras não foi capaz de afetar no parâmetro massa seca da raiz.

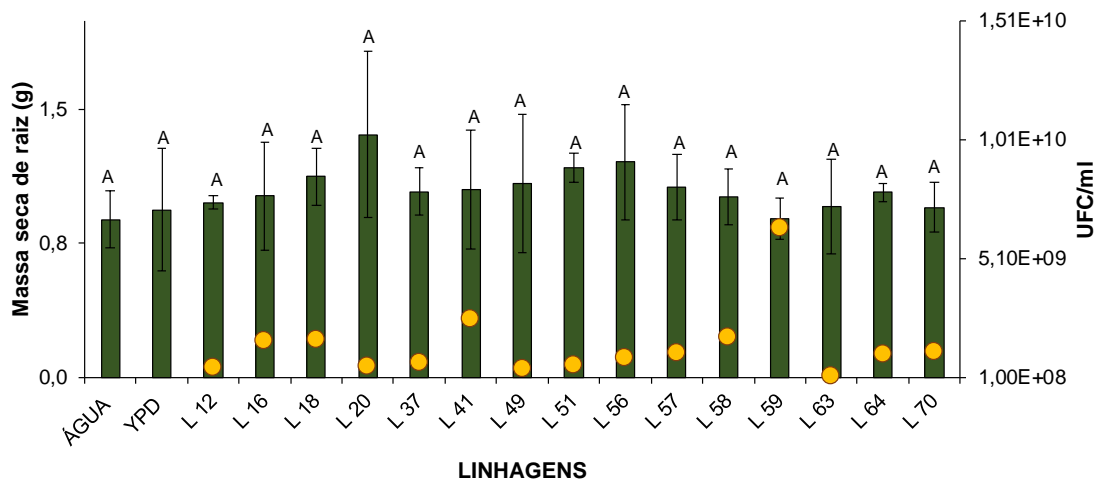


Figura 36. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da raiz de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o peso em gramas atingido durante o plantio, após secagem em estufa 60° C.

A massa seca da parte aérea também não foi influenciada pelos tratamentos. O mesmo foi observado no primeiro ciclo de plantio, indicando que a inoculação de leveduras não demonstrou forte influência sobre a massa seca da parte aérea em plantas de canola (Figura 37).

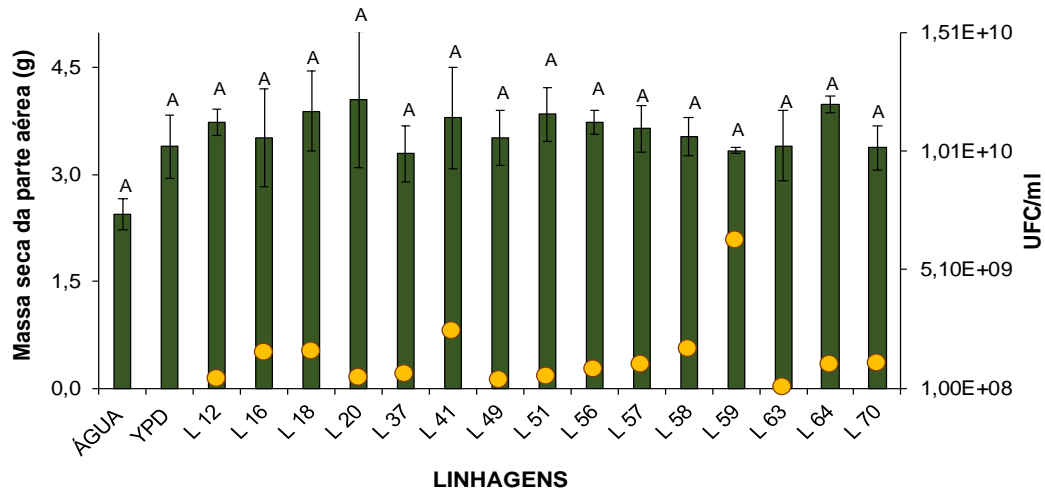


Figura 37. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da parte aérea de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o peso em gramas atingido durante o plantio, após secagem em estufa 60° C.

A razão raiz /parte aérea também não demonstrou diferença estatística entre os tratamentos e controles testados. A alocação de biomassa não foi influenciada assim como no primeiro ciclo de plantio, sugerindo um padrão para quando não há diferenças significativas no peso tanto de massa seca radicular ou aérea (Figura 38).

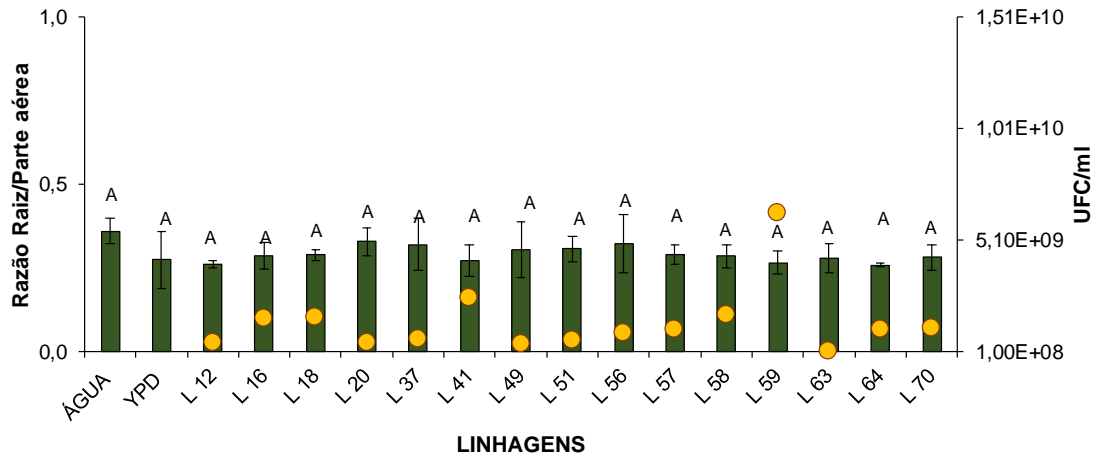


Figura 38. Efeito da inoculação de leveduras na razão entre raiz/parte aérea. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o valor atingido entre a razão raiz/parte aérea.

Os resultados apresentaram diferenças significativas apenas no parâmetro de diâmetro do caule, indicando o benefício da utilização de leveduras como bioestimulante vegetal. Análise colorimétrica foi elaborada para selecionar as 8 linhagens utilizadas no plantio associado à técnica de rochagem. No método, a variação de cores é baseada no desempenho das leveduras em cada parâmetro. Dessa forma, a cor verde corresponde aos maiores valores, vermelho indicam os menores e as colorações amarelo e laranja, valores intermediários (Figura 39).

Leveduras	%Clorofila	%Diâmetro	%MSPA	%MSR	%Razão R PA
YPD	-0,05	5,36	26,70	6,30	-15,29
* L 62	4,68	26,00	42,63	31,29	-7,10
* L 52	4,43	23,05	51,34	22,80	-18,27
L 49	6,75	12,62	21,98	4,55	-14,21
L 44	7,62	18,01	25,77	-0,13	-21,24
L 43	2,03	25,04	33,46	16,46	-10,74
L 40	5,17	-0,39	15,51	16,54	0,99
* L 39	6,90	19,15	32,52	12,69	-15,84
L 33	9,98	8,30	6,50	14,05	6,34
L 32	5,63	4,46	-0,48	-7,31	-6,95
L 10	6,00	-4,36	7,59	-6,91	-14,09
L 3	5,34	6,09	27,05	1,05	-20,25

Leveduras	%Clorofila	%Diâmetro	%MSPA	%MSR	%Razão R PA
YPD	10,03	5,90	35,10	17,58	-11,04
L 70	-2,51	-2,44	-8,41	2,67	11,66
L 64	-15,46	-5,67	-15,21	-8,14	8,43
L 63	6,25	3,94	44,14	14,94	-20,69
L 59	2,12	-1,28	39,66	8,15	-22,83
* L 58	9,04	17,25	63,39	17,28	-27,91
L 57	-4,50	-5,94	1,68	31,30	26,79
* L 56	11,04	15,02	53,32	10,79	-27,33
L 49	-8,71	8,58	36,78	0,60	-26,08
* L 41	3,51	19,00	53,22	36,29	-10,62
* L 37	9,22	19,28	59,61	27,20	-19,83
L 20	-3,38	-7,36	-3,47	13,25	18,15
* L 18	5,47	12,75	55,79	19,16	-24,44
L 16	-9,10	16,07	45,07	14,56	-20,76
L 12	4,07	15,18	44,56	22,93	-15,37

Figura 39. Análise colorimétrica destacando os melhores desempenho das linhagens em cada parâmetro avaliado, * indica linhagens selecionadas. (MSPA): massa seca da parte aérea, (MSR) massa seca da raiz e (C_PA) comprimento da parte aérea.

6.3 Bioensaio realizado em casa de vegetação associado à técnica de rochagem

O bioensaio realizado em casa de vegetação associado à técnica de rochagem foi feito com a utilização do pó de rocha PRC-1. A escolha do pó de rocha foi baseada nos resultados de solubilização de potássio, já que foi o meio contendo PRC-1 teve o maior número de leveduras com capacidade de solubilização e redução do pH. As linhagens utilizadas foram selecionadas a partir do plantio realizado anteriormente em casa de vegetação, sendo elas: L56, L37, L52, L58, L41, L6, L18 e L39. A preparação do inóculo e intervalos de inoculação foram mantidos, assim como na primeira etapa do plantio. O pó de rocha foi incorporado junto ao solo no momento do plantio. Essa etapa teve como objetivo avaliar a capacidade das linhagens de leveduras em influenciar no crescimento de plantas de canola através da solubilização do pó de rocha, dessa vez em casa de vegetação.

Como parâmetro de análise foram mantidos os mesmos critérios, teor de clorofila, diâmetro, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e razão entre raiz e parte aérea.

O teor de clorofila mostrou que os tratamentos testados não foram superiores estatisticamente em relação a dois dos quatro controles testados (PRC-1 e YPD/ PRC-1) (Figura 40). O tratamento L39 teve desempenho ainda inferior em relação ao restante dos testados. A partir desses resultados, não é possível concluir a influência positiva da inoculação das linhagens testadas.

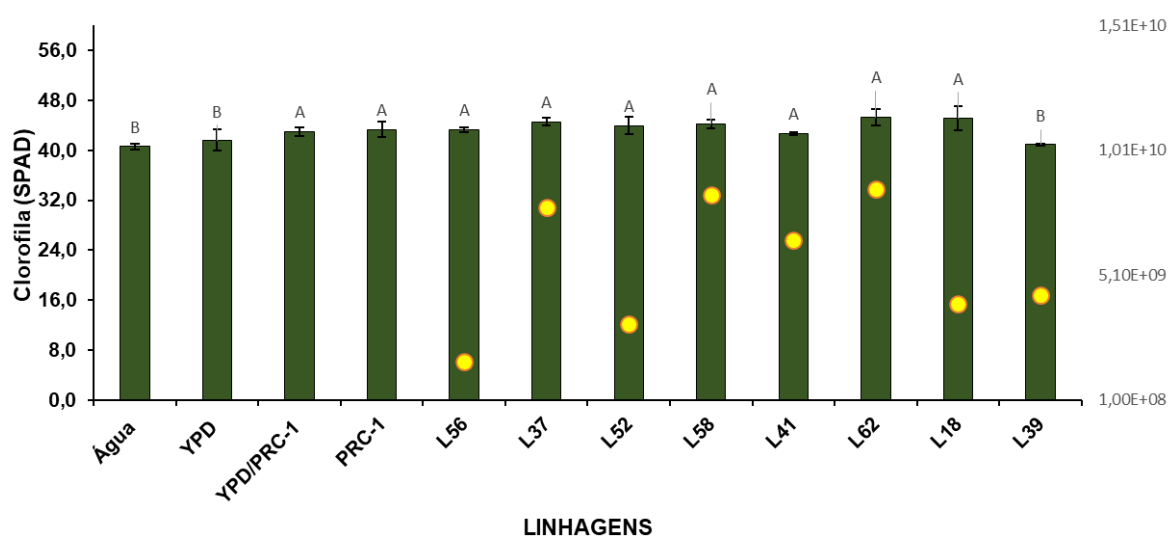


Figura 40. Efeito da inoculação de leveduras no teor de clorofila de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o teor de clorofila atingido durante o plantio.

Quanto ao diâmetro do caule, as linhagens utilizadas não influenciaram estatisticamente como havia sido observado nos plantios anteriores. Dessa forma, não houve diferença significativa entre as leveduras testadas e o controle YPD/ PRC-1 (Figura 41).

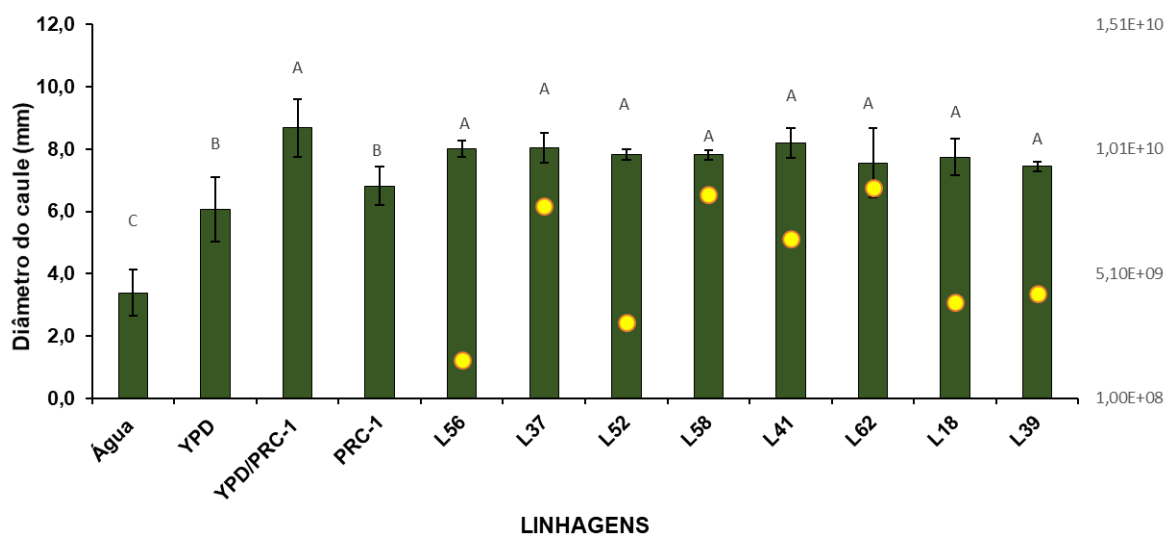


Figura 41. Efeito da inoculação de leveduras no diâmetro de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o comprimento em milímetros atingido durante o plantio.

A massa seca da raiz (Figura 42) apresentou diferença estatística entre 5 dos 8 tratamentos utilizados. O controle YPD/ PRC-1 mostrou-se inferior em relação às linhagens L37, L41, L52, L58 e L62. Estatisticamente houve benefício da utilização desses tratamentos, sendo apenas L18, L39 e L56 iguais ao controle.

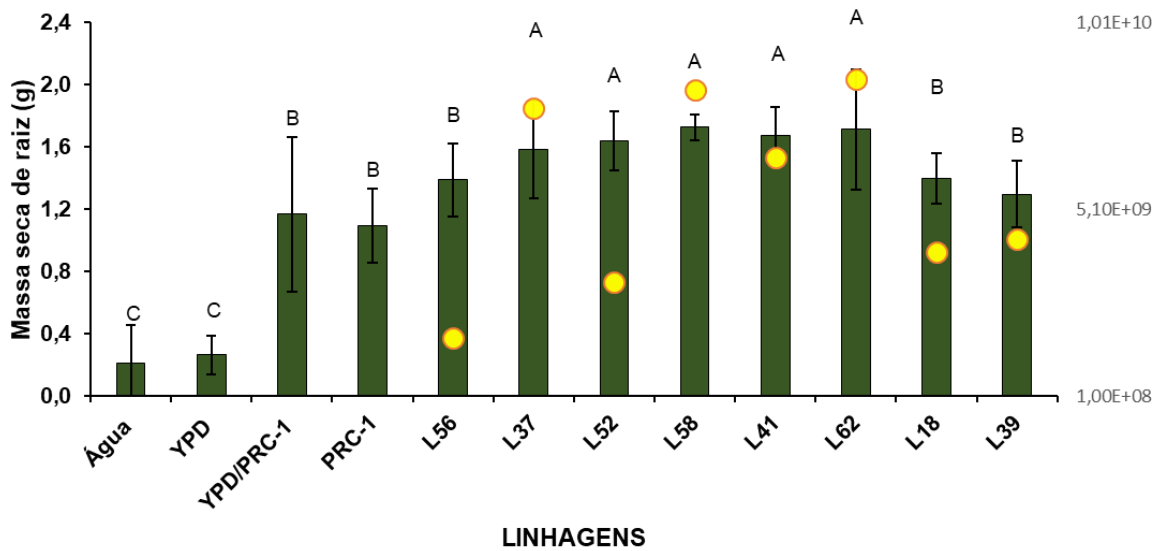


Figura 42. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da raiz de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o peso em gramas atingido durante o plantio, após secagem em estufa 60° C.

A massa seca da parte aérea teve diferença entre os tratamentos, porém essa diferença não permaneceu quanto ao principal controle YPD/PRC-1. Portanto, a influência das leveduras que foram inoculadas não pode ser confirmada para este parâmetro a partir deste ensaio (Figura 43).

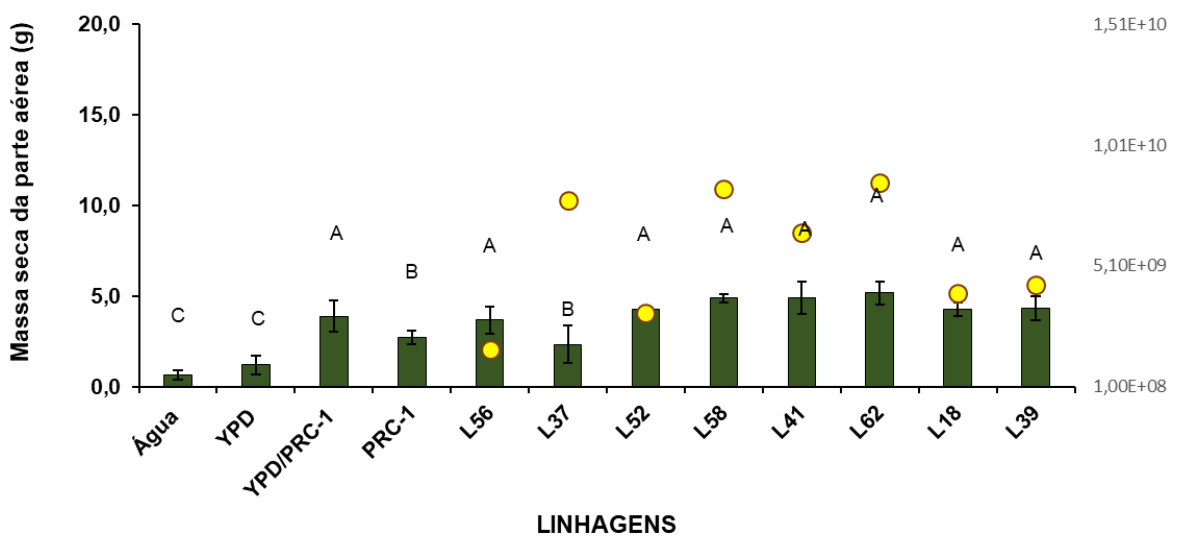


Figura 43. Efeito da inoculação de leveduras na massa seca da parte aérea de plantas de canola. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o peso em gramas atingido durante o plantio, após secagem em estufa 60° C.

Assim como foi observado nos plantios em que não houve a utilização de pó de rocha, o parâmetro raiz/parte aérea não apresentou resultados estatísticos significativos, dessa forma, não podendo ser confirmada a influência dos microrganismos nesse parâmetro (Figura 44).

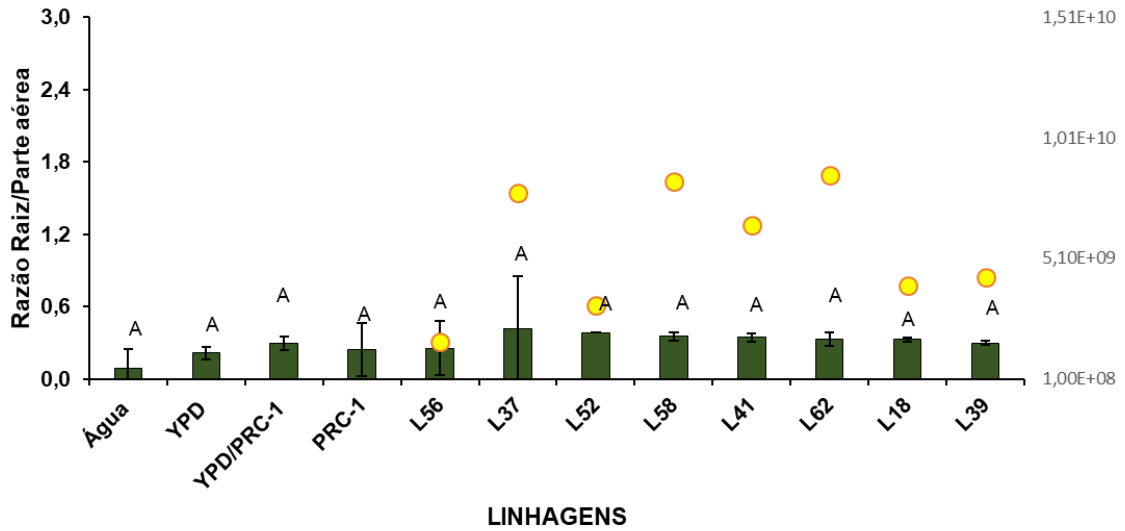


Figura 44. Efeito da inoculação de leveduras na razão entre raiz/parte aérea. As bolas amarelas indicam a UFC/mL, enquanto as barras indicam o valor atingido entre a razão raiz/parte aérea.

A figura 45 mostra a diferença visual das plantas de canola entre os tratamentos testados, a partir da escolha de uma planta representativa de cada tratamento. Apesar da planta (L41), se destacar visualmente em relação aos controles, as análises estatísticas levaram em conta todas as repetições.



Figura 45. Plantas representativas de cada tratamento mostrando o efeito da inoculação de leveduras.

Com base no desempenho das leveduras utilizadas no plantio associado à técnica de rochagem, foram selecionadas três linhagens para análise de macronutrientes, juntamente com os controles PRC-1 e PRC-1+YPD (Figura 46). A análise foi feita tendo em vista os resultados do único parâmetro com resultados estatísticos significativos (massa seca de raiz). Portanto a escolha de 3 linhagens entre as 5 que se destacaram em relação ao controle, foi necessária para garantir que os demais parâmetros também fossem considerados.

Leveduras	%Clorofila	%Diâmetro	%MSPA	%MSR	C_PA	SOMA
Água	40,54	3,87	0,66	0,21	4,33	49,61
YPD	44,91	5,18	1,22	0,26	5,58	57,14
YPD/PRC-1	41,47	7,89	3,88	1,17	13,27	67,68
PRC-1	44,16	6,30	2,71	1,02	10,24	64,43
* L62	43,09	9,85	5,17	1,44	11,11	70,66
* L58	42,09	7,64	4,89	1,56	13,48	69,66
L56	44,24	8,14	3,69	1,52	10,55	68,15
* L52	43,47	8,02	4,13	1,53	12,32	69,47
L41	42,58	6,58	4,91	1,47	13,18	68,71
L39	41,43	7,77	4,33	1,20	14,66	69,39
L37	45,33	5,86	2,34	1,29	13,06	67,87
L18	43,51	7,50	4,28	1,17	11,10	67,56

Figura 46. Análise colorimétrica destacando os melhores desempenho das linhagens em cada parâmetro avaliado, (*) indica as linhagens selecionadas.(MSPA): massa seca da parte aérea, (MSR) massa seca da raiz e (C_PA) comprimento da parte aérea.

6.3.1 Teor de macronutrientes em Canola submetidas à rochagem e inoculação por leveduras

O material da massa seca da parte aérea foi usado para quantificar macronutrientes primários e secundários. O objetivo da análise foi verificar a influência da inoculação das leveduras na absorção de fósforo e potássio e dos macronutrientes secundários, cálcio e magnésio. As três linhagens foram escolhidas através da análise colorimétrica que indicou o desempenho em cada parâmetro, sendo elas: L52, L58 e L62 (Figura 46).

A Figura 49 apresenta a quantidade de potássio e magnésio absorvida pela canola nos tratamento de leveduras testados (L52, L58 e L62). A levedura L62 destacou-se na absorção de K e Mg em comparação às outras duas leveduras testadas, tendo resultados de 30,81 g/kg para K e 10,7 g/kg para Mg. Já as plantas inoculadas com a levedura L52 e L58 mantiveram a absorção semelhante aos controles PRC-1 e PRC-1+ YPD. Dessa forma, a levedura L62 foi considerada mais eficiente entre as 3 linhagens quanto à disponibilização de K para plantas de canola.

Considerando a relação K/Mg ainda pouco compreendida, sabe-se que essa relação pode ser tanto de efeito sinérgico como antagônico, tal fato pode variar conforme idade e espécie de planta. O K e o Mg atuam como cofatores de enzimas importantes no controle de processos de ordem fisiológica e bioquímica nos tecidos vegetais (Xie *et al*, 2021). O presente trabalho indicou que a inoculação de leveduras pode ter gerado um aumento na absorção de K, sugerindo uma possível interação sinérgica com o Mg, já que a mesma linhagem que promoveu melhor absorção de K para a planta foi a mesma com resultados positivos para o Mg (Figura 47).

A utilização de microrganismos que favorecem a solubilização de K pode interferir também na absorção de Mg, uma vez que a aplicação demasiada de fertilizantes potássicos pode ocasionar deficiência de Mg, em consequência da relação antagônica entre os nutrientes. A competição entre os nutrientes ocorre devido aos sistemas de absorção das raízes das plantas, já que os canais de absorção responsáveis pelo transporte não são específicos para cada um. Dessa forma, quando há excesso de K^+ , pode ocorrer competição pelos sítios tornando inacessíveis para o Mg^+ (Xie *et al*, 2021).

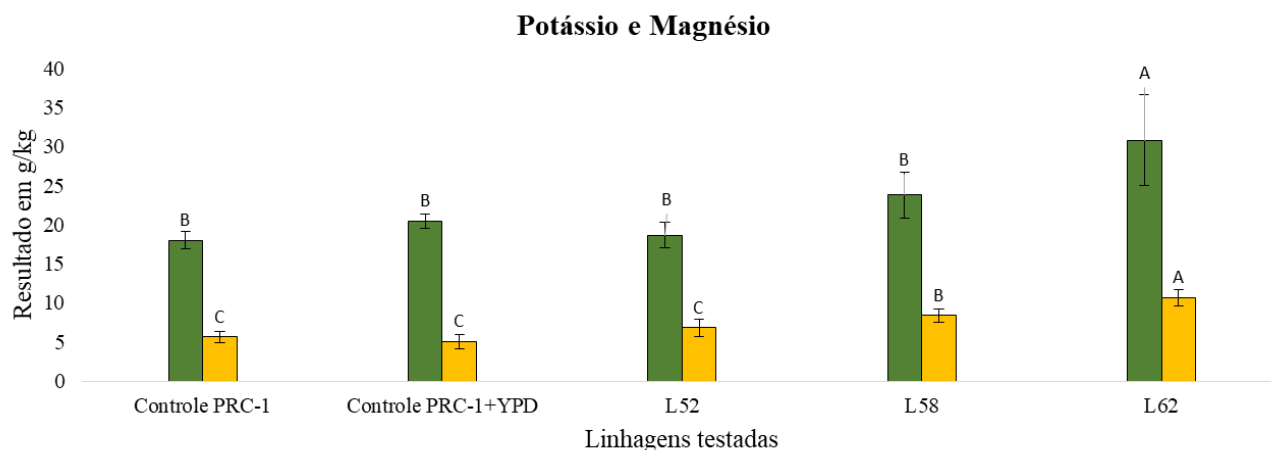


Figura 47. Resultado em g/kg dos macronutrientes Potássio e Magnésio. As barras verdes apresentam resultado em g/kg de potássio e as barras amarelas de magnésio absorvidos pelas plantas de canola.

Também foi analisado a absorção de P (Figura 48), sendo a linhagem L58 responsável pela maior absorção do nutriente, 22 g/kg para fósforo e 13,4 g/kg para Ca. Considerando a relação na absorção de P/Ca, foi observado que a absorção de Ca pela levedura não proporcionou prejuízo na absorção de P comparado aos controles PRC-1 e PRC-1+YPD.

O mesmo não foi observado para a linhagem L62, que apresentou uma menor absorção de P. Em solos geralmente ácidos a relação de absorção de P é fortemente influenciada pelo fato do nutriente ser fixado em fosfatos de cálcio (Fathi et al, 2023).

Dessa forma, entre as linhagens avaliadas, L58 destacou-se quanto a capacidade de promover absorção de fósforo, porém isso não foi observado quanto à solubilização nos testes *in vitro*.

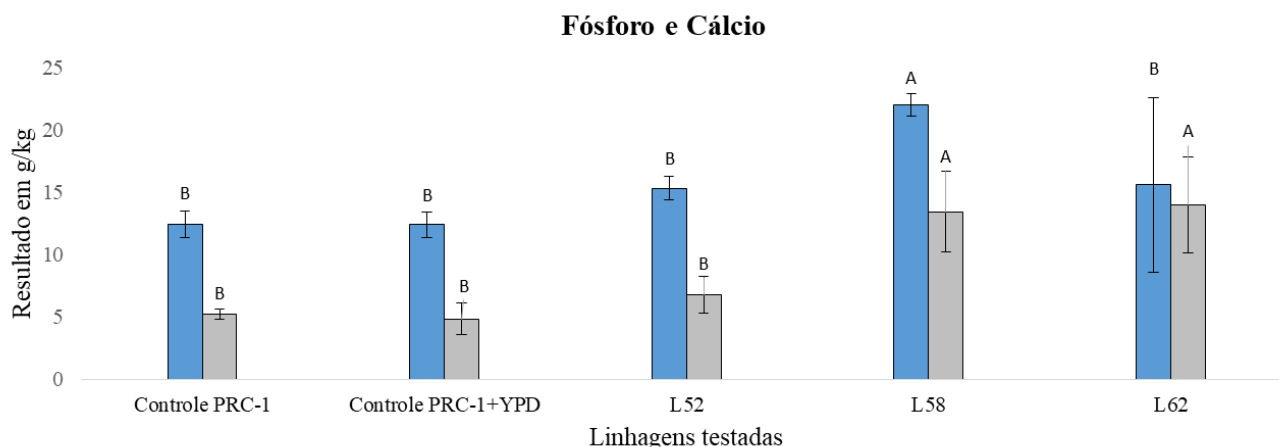


Figura 48. Resultado em g/kg dos macronutrientes Fósforo e Cálcio. As barras azuis apresentam resultado em g/kg de fósforo e as barras cinzas de cálcio absorvidos pelas plantas de canola.

Em um outro estudo, duas linhagens foram testadas *Rhodospiridium paludigenum* JYC100 e *Aureobasidium pullulans* JYC104 quanto a solubilização de fosfato de cálcio. JYC100 apresentou resultados favoráveis de solubilização ao exibir halo ao redor de colônias que indica solubilização de fosfato pela levedura. Já *A. pullulans* não indicou solubilização alguma. As linhagens foram testadas também em plantas de *Arabidopsis thaliana* e tomate tipo cereja. Os resultados mostraram que a biomassa, altura do broto, além do conteúdo de P inorgânico das plantas aumentaram em relação aos controles (Chen et al, 2023).

Os resultados sugerem que o acúmulo de nutriente final na planta em decorrência da inoculação de leveduras é condicionado pela linhagem utilizada, indicando especificidade entre o microrganismo e a absorção do nutriente.

Por fim, a solubilização de nutrientes para Canola através da produção dos ácidos orgânicos pelas leveduras pode ser estratégica para elevar a produção da cultura estudada, uma vez que a solubilização mineral é influenciada pelo tipo de ácido orgânico liberado por estes microorganismos (Lodi et al, 2021).

7. Conclusão

Este trabalho demonstrou, através dos ensaios realizados, a identificação de leveduras com potencial de solubilização de potássio e fósforo. A linhagem L62 mostrou-se eficiente na solubilização de K, além de apresentar resultado positivo na promoção de absorção do nutriente em plantas de canola. A L58 por sua vez, não apresentou altos valores de P nos resultados *in vitro*, porém reduziu o pH do meio, em casa de vegetação destacou-se nos níveis de P absorvidos pela planta em decorrência da inoculação. Também foi possível identificar linhagens capazes de produzir AIA em meio enriquecido com L-triptofano. Nos ensaios conduzidos em casa de vegetação, o diâmetro do caule e também a massa seca da raiz foram influenciados em decorrência da inoculação de leveduras. Portanto, os testes realizados em laboratório revelam que as leveduras geram compostos que influenciam o crescimento e desenvolvimento vegetal, além de proporcionar a solubilização de nutrientes.

8. Perspectivas

Uma vez que os ensaios de solubilização e quantificação de K e P, bem como a produção de ácido indolacético, indicaram a capacidade das leveduras na disponibilização de nutrientes e potencial bioestimulante, é necessário uma elucidação mais ampla em relação aos mecanismos utilizados pelas leveduras que interferem diretamente o processo de solubilização. Compreender a relação entre a redução do pH por parte das leveduras, a produção de ácidos orgânicos e como isso interfere no desenvolvimento vegetal.

Em casa de vegetação, a utilização de outros tipos de rocha, como as fosfatadas, podem apresentar resultados diferentes, considerando diferentes fontes de fornecimento de P, influenciando a absorção do nutriente. Além disso, a repetição da inoculação das leveduras até o fim do ciclo da cultura pode avaliar o efeito real na produtividade. Considerando as vantagens da adubação fosfatada na germinação de canola, a testagem de uma inoculação prévia à obtenção do primeiro par de folha pode ser uma estratégia para disponibilização do nutriente.

Referências

- Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria 1. **Crop science**, v. 13, n. 6, p. 630-633, 1973.
- Albertini, J., Rocha, R. K., Bastos, R. G., Ceccato-Antonini, S. R., & Rosa-Magri, M. M. Phosphate solubilization and indole acetic acid production by rhizosphere yeast *Torulaspora globosa*: improvement of culture conditions for better performance in vitro. **3 Biotech**, v. 12, n. 10, p. 262, 2022.
- ALBRECHT, L. P. A. Adubação potássica em canola e seu efeito no rendimento e na qualidade fisiológica e sanitária das sementes. 2004
- Ali, A., Ölmez, F., Zeshan, M. A., Mubeen, M., Iftikhar, Y., Sajid, A., ... & Solanki, M. K. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 103199, 2024.
- Alovisi, A. M. T., Taques, M. M., Alovisi, A. A., Tokura, L. K., da Silva, J. A. M., & Cassol, C. J. Rochagem como alternativa sustentável para a fertilização de solos. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 9, p. 918-932, 2020.
- AMPRAYN, K. O., ROSE, M. T., KECSKÉS, M., PEREG, L., NGUYEN, H. T., e KENNEDY, I. R. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth. **Applied Soil Ecology**, v. 61, p. 295-299, 2012.
- ANGELOTTI-MENDONÇA, J., RIBOLDI, L. B., SOARES, C. D. F., CAMARGO E CASTRO, P. R., e KLUGE, R. A. Canola (*Brassica napus* L.). **Piracicaba: ESALQ**, 2016.
- BEUDOT, FREDERIC. Líder global da Corteva diz que biológicos são para uma nova agricultura. Forbes. Disponível em: <https://forbes.com.br/forbesagro/2024/06/lider-global-da-corteva-diz-que-biologicos-sao-para-uma-nova-agricultura/>. Acesso em 27 julho 2024.
- BEVILAQUA, G. A. P., ANTUNES, I. F., ZUCHI, J., e MARQUES, R. L. L. Indicações técnicas para produção de sementes de plantas recuperadoras de solo para a agricultura familiar. 2008
- BEZERRA, I., GIORDANI, R. C. F., e FURTADO-SILVA, A. C. G. bases científicas para uma agricultura sustentável” e ainda, segundo esta autora, no Brasil, “O campo agroecológico pode ser visto também como um movimento social” já que passa a incorporar questões que problematizam os aspectos sociais, para além da concepção tecnológica, à qual foi inicialmente concebida. Pelos fundamentos sociais e éticos, a Agroecologia e a Soberania Ali. **CONFLITOS AGRÁRIOS NA PERSPECTIVA SOCIOAMBIENTAL**, p. 83, 2020.
- Biológicos. Corteva. Disponível em: <https://www.corteva.com.br/produtos-e-servicos/biologicos.html>. Acesso em: 27 jul. 2024
- BISPO, R. L. B.; CECCATO-ANTONINI, S. R.; TOSTA, C. D.; FONTANETTI, A.; PRADO, V. S.; TAKITA, M. A.; ROSA-MAGRI, M. M. *Sugarcane molasses as substrate to soil yeasts: Indole-3-acetic acid production and maize initial growth promotion*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 47, p. 102618, 2023.

BRITO, V. N., TELLECHEA, F. R. F., HEITOR, L. C., FREITAS, M. S. M., e MARTINS, M. A. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada na produção de mudas de paricá. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 485-497, 2017.

CARA, D. V. C., ROCHA, D. L. D., CUNHA, C. D. D., RIZZO, A. C. D. L., e SÉRVULO, E. F. C. Solubilização biológica de potássio. 2012.

Carvajal, M., Godoy, L., Gebauer, M., Catrileo, D., & Albornoz, F. Screening for indole-3-acetic acid synthesis and 1-aminocyclopropane-carboxylate deaminase activity in soil yeasts from Chile uncovers *Solicoccozyma terrea* as an effective plant growth promoter. *Plant and Soil*, v. 496, n. 1, p. 83-93, 2024.

CARVALHO, J. C. S., SILVEIRA, E. R., e MATOS, T. M. Perspectivas na pesquisa de Plantas Mediciniais Brasileiras. **Laboratório de Anatomia Vegetal**, v. 194, 2022.

CASTIGLIONE, A. M., MANNINO, G., CONTARTESE, V., BERTEA, C. M., e ERTANI, A. Microbial biostimulants as response to modern agriculture needs: Composition, role and application of these innovative products. **Plants**, v. 10, n. 8, p. 1533, 2021.

Chen, Y. R., Kuo, C. Y., Fu, S. F., & Chou, J. Y. Plant growth-promoting properties of the phosphate-solubilizing red yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 39, n. 2, p. 54, 2023.

CORRÊA, E., GALVAO, J., e BETTIOL, W. Manguezais: potencial fonte de microrganismos para o uso como agentes de biocontrole da podridão radicular e promotores de crescimento de plantas em hidroponia. 2011.

DA SILVEIRA, A. P. D., e DOS SANTOS FREITAS, S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Instituto Agrônomo, 2007.

DE OLIVEIRA, A. L. M., URQUIAGA, S., e BALDANI, J. I. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. 2003.

de Oliveira, N. A. M., de Oliveira, N. G. R. M., da Silva Valle, M. J., & de Souza, B. M. O EFEITO DO USO DE PÓ DE ROCHA E MICRORGANISMOS EFICIENTES NO DESENVOLVIMENTO DA ALFACE. Expediente CEETEPS, p. 79.

Devi, R. P., Yamunasri, P., Balachandar, D., & Muruganathi, D. Potentials of Soil Yeasts for Plant Growth and Soil Health in Agriculture: A Review. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, v. 19, n. 1, 2025.

Dittmer, K. M., Rose, S., Snapp, S. S., Kebede, Y., Brickman, S., Shelton, S., ... & Wollenberg, E. Agroecology can promote climate change adaptation outcomes without compromising yield in smallholder systems. **Environmental Management**, v. 72, n. 2, p. 333-342, 2023.

Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/11206935/mercado-de-biocombustiveis-e-oportunidade-para-crescimento-da-canola-no-brasil>>. Acesso em: 19 May 2024.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) **Mercado de biocombustíveis é oportunidade para crescimento da canola no Brasil**. Portal Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) **Pesquisa brasileira avança no uso de remineralizadores no solo.** Portal Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/85673644/pesquisa-brasileira-avanca-no-uso-de-remineralizadores-no-solo>>. Acesso em: 19 May 2024.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) **Prosa Rural - Uso da canola na alimentação e para produção de biodiesel.** Portal Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2464879/prosa-rural---uso-da-canola-na-alimentacao-e-para-producao-de-biodiesel>>. Acesso em: 19 May 2024.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). **Bioestimulantes e produção de hortaliças.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/14218786/bioestimulantes-e-producao-dehortalicas#:~:text=Como%20exemplos%20de%20bioestimulantes%20podem,comerciais%20dispon%C3%ADveis%20no%20mercado%20brasileiro>. Acesso em: 1 jun. 2024.

Empresa brasileira de pesquisa AGROPECUÁRIA (Embrapa). **Fenologia: Embrapa usa o estudo para lançar publicação sobre as fases da cultura de grão-de-bico.** Embrapa, Brasília, DF, 6 jun. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/68465547/fenologia-embrapa-usa-o-estudo-para-lancar-publicacao-sobre-as-fases-da-cultura-de-grao-de-bico>. Acesso em: 12 jun. 2024.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Fixação biológica de nitrogênio (FBN). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/1495/fixacao-biologica-de-nitrogenio-fbn>. Acesso em: 8 jun. 2024.

FALIH, A. M., e WAINWRIGHT, M. Nitrification, S-oxidation and P-solubilization by the soil yeast *Williopsis californica* and by *Saccharomyces cerevisiae*. **Mycolological Research**, v. 99, n. 2, p. 200-204, 1995.

FAQUIN, V. Nutrição mineral de plantas. **Lavras: UFLA/Faepe**, v. 183, 2005.
Fathi, A., & MEHDINIYA AFRA, J. Plant Growth and Development in Relation to Phosphorus: A review. **Bulletin of the university of agricultural sciences & veterinary medicine Cluj-Napoca. Agriculture**, v. 80, n. 1, 2023.

Fawzy, E. N., Haridy, M. S., & Abd El-Baki, G. K. Potentiality of some yeast species for promotion of growth and productivity of Soybean plants (*Glycine max. L.*). **Journal of Advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 64-78, 2022.

FERNANDEZ-SAN MILLAN, A., FARRAN, I., LARRAYA, L., ANCIN, M., ARREGUI, L. M., e VERAMENDI, J. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from Spanish vineyards: Benefits for seedling development. **Microbiological research**, v. 237, p. 126480, 2020.

Fernandez-San Millan, A., Farran, I., Larraya, L., Ancin, M., Arregui, L. M., & Veramendi, J. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from Spanish vineyards: Benefits for seedling development. **Microbiological research**, v. 237, p. 126480, 2020.

Ferreira, D. F. (2011). Um sistema computacional de análise estatística. *Ciência e agrotecnologia*, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, E., NOGUEIRA, M., e HUNGRIA, M. Manual de análises de bioinsumos para uso agrícola: inoculantes. 2024.

FIDÉLIS, R. R., VELOSO, D. A., SILVA, K. C. L., DE LAIA NASCIMENTO, V., DOS SANTOS, M. M., JÚNIOR, N. R. M., e CAVALCANTE, R. R. PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL POR MICRORGANISMOS EM ASSOCIAÇÃO COM HIDROGEL NA CULTURA DA SOJA. **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 15, n. 3, 2023.

FLORENCIO, C., BORTOLETTO-SANTOS, R., FAVARO, C. P., BRONDI, M. G., VELLOSO, C. C., KLAIC, R., ... e MATTOSO, L. H. AVANÇOS NA PRODUÇÃO E FORMULAÇÃO DE INOCULANTES MICROBIANOS VISANDO UMA AGRICULTURA MAIS SUSTENTÁVEL. **Química Nova**, v. 45, p. 1133-1145, 2022.

Gao, J. N., Xu, M. T., & Uwiringiyimana, E. Isolation of highly efficient potassium solubilizing bacteria and their effects on nutrient acquisition and growth promotion in tobacco seedlings. *BMC Plant Biology*, v. 25, n. 1, p. 745, 2025.

García-Berumen, J. A., de la Torre, J. A. F., de Los Santos-Villalobos, S., Espinoza-Canales, A., Echavarría-Cháirez, F. G., & Gutiérrez-Bañuelos, H. Phosphorus dynamics and sustainable agriculture: The role of microbial solubilization and innovations in nutrient management. *Current Research in Microbial Sciences*, v. 8, p. 100326, 2025.

GATIBONI, L. C., KAMINSKI, J., RHEINHEIMER, D. D. S., e FLORES, J. P. C. Biodisponibilidade de formas de fósforo acumuladas em solo sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 691-699, 2007.

GOMES, E. A., OLIVEIRA-PAIVA, C. A., LANA, U. D. P., SILVA, U. D. C., & Marriel, I. E. Potencial de microrganismos para solubilização de fosfatos de rocha. 2014.

GOMES, M. A. F., de SOUZA, M. D., BOEIRA, R. C., e de TOLEDO, L. G. Nutrientes vegetais no meio ambiente: ciclos bioquímicos, fertilizantes e corretivos. 2008.

GOVERNO DO BRASIL. Conceitos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos>. Acesso em: 1 jun. 2024.

GUIMARÃES, C., SANTOS, A. D., RODRIGUES, E., e LAVIOLA, B. Canola: panorama atual e tecnologias de produção no Brasil. 2022.

HIRATA, C. A., e ANDRADE FILHO, G. Abordagem teórica das interações ambientais entre nutrição de plantas e microrganismos. **GEOGRAFIA (Londrina)**, v. 20, n. 3, p. 191-216, 2011.

HOSSAIN, M. M., E SULTANA, F. Application and mechanisms of plant growth promoting fungi (PGPF) for phytostimulation. **Organic agriculture**, v. 1, p. 31, 2020.

HOSSAIN, M. M., SULTANA, F., e ISLAM, S. Plant growth-promoting fungi (PGPF): phytostimulation and induced systemic resistance. **Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 2: Microbial Interactions and Agro-Ecological Impacts**, p. 135-191, 2017.

Ignatova, L. V., Brazhnikova, Y. V., Berzhanova, R. Z., & Mukasheva, T. D. Plant growth-promoting and antifungal activity of yeasts from dark chestnut soil. **Microbiological research**, v. 175, p. 78-83, 2015.

IRIARTE, L. B., VALETTI, O. E., e APPELLA, C. Descripción de la planta. Cultivo de la Colza. Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária-INTA, 2008. 156p. 2013.

Johnson, R., Vishwakarma, K., Hossen, M. S., Kumar, V., Shackira, A. M., Puthur, J. T. Potassium in plants: Growth regulation, signaling, and environmental stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 172, p. 56-69, 2022.

KINPARA, D. I. A importância estratégica do potássio para o Brasil. 2003.

LANA, U. D. P., RIBEIRO, V., GOMES, E., e OLIVEIRA-PAIVA, C. D. Seleção em larga escala de bactérias produtoras do hormônio ácido indolacético (AIA), auxina associada à promoção de crescimento em plantas. 2017.

Li, H., Cheng, X., Zhang, L., Hu, J., Zhang, F., Chen, B., ... & Wu, X. An integration of genome-wide association study and gene co-expression network analysis identifies candidate genes of stem lodging-related traits in *Brassica napus*. *Frontiers in plant science*, v. 9, p. 796, 2018.

Lodi, L. A., Klaic, R., Ribeiro, C., & Farinas, C. S. A green K-fertilizer using mechanical activation to improve the solubilization of a low-reactivity potassium mineral by *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology Reports**, v. 15, p. 100711, 2021.

LOPES, M., SANTIAGO, B., SILVA, I. D., e GURGEL, E. Microbial biotechnology: inoculation, mechanisms of action and benefits to plants. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e356101220585, 2021.

Machado, T. E., & Diniz, E. R. Rochagem associada à aplicação de microrganismos eficientes na cultura do feijoeiro. *Cadernos de Agroecologia*, v. 17, n. 3, 2022.

Maguire, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. 1962.

Meena, V. S., Maurya, B. R., & Verma, J. P. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils?. *Microbiological research*, v. 169, n. 5-6, p. 337-347, 2014.

MENDES, I. D. C., e DOS REIS JÚNIOR, F. B. Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica. 2003.

Mestre, M. C., Langenheim, M. E., Severino, M. E., & Fontenla, S. Do psychrotolerant Patagonian soil yeasts produce 3-indole acetic acid?. **Revista Argentina de Microbiología**, 2025.

MOHAMED, H. M., EL-HOMOSY, R. F., ABD-ELLATEF, A. E. H., SALH, F. M., e HUSSEIN, M. Y. Identification of yeast strains isolated from agricultural soils for releasing potassium-bearing minerals. **Geomicrobiology Journal**, v. 34, n. 3, p. 261-266, 2017.

NASCENTE, A. S., DE FILIPPI, M. C. C., LANNA, A. C., DE SOUZA, A. C. A., DA SILVA LOBO, V. L., e DA SILVA, G. B. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 2956-2965, 2017.

NASSAR, A. H., EL-TARABILY, K. A., e SIVASITHAMPARAM, K. Promotion of plant growth by an auxin-producing isolate of the yeast *Williopsis saturnus* endophytic in maize (*Zea mays* L.) roots. **Biology and Fertility of soils**, v. 42, p. 97-108, 2005.

Nimsi, K. A., Manjusha, K., Kathiresan, K., & Arya, H. Plant growth-promoting yeasts (PGPY), the latest entrant for use in sustainable agriculture: a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 2, p. 1xac088, 2023.

Oliveira-Paiva, C. A., Bini, D., Marriel, I. E., Gomes, E. A., dos Santos, F. C., Cota, L. V., ... & de SOUZA, F. F. Inoculante à base de bactérias solubilizadoras de fosfato nas culturas do milho e da soja (BiomaPhos®): dúvidas frequentes e boas práticas de inoculação. 2021

Pandey, K., & Saharan, B. S. Potassium-solubilizing endophytes: mechanisms and applications in enhancing sustainable agriculture and plant resilience. *Symbiosis*, p. 1-15, 2025.

Peng, X., Wang, Y., Tang, L. J., Li, X. X., Xiao, Y. W., Zhang, Z. B., ... & Zhu, D. Yeasts from Nanfeng mandarin plants: occurrence, diversity and capability to produce indole-3-acetic acid. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 32, n. 6, p. 1496-1506, 2018.

PRADO, R. B., BENITES, V. D. M., MACHADO, P. D. A., POLIDORO, J., e NAUMOV, A. Aspectos relacionados ao mapeamento da disponibilidade de potássio nos solos do Brasil. 2008.

Prates, J. S., da Silva, V. A., Santos, H. O., Rodrigues, T. T. M. S., Oliveira, F. S., & Santos, E. M. S. Rochagem na produção sustentável de plantas forrageiras: Revisão sistemática da literatura. **Nature and Conservation**, v. 15, n. 2, p. 83-97, 2022.

Ramya, P., Gomathi, V., Devi, R. P., & Balachandar, D. a potential soil yeast candidate for improving soil physical, chemical and biological properties. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 7, p. 4619-4628, 2021.

Ranal, M. A., Santana, D. G. D., Ferreira, W. R., & Mendes-Rodrigues, C. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. **Brazilian Journal of Botany**, v. 32, p. 849-855, 2009.

RAO, R. P., HUNTER, A., KASHPUR, O., e NORMANLY, J. Aberrant synthesis of indole-3-acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae* triggers morphogenic transition, a virulence trait of pathogenic fungi. **Genetics**, v. 185, n. 1, p. 211-220, 2010.

RONQUIM, C. C. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. 2010.

Rosa-Magri, M. M., Avansini, S. H., Lopes-Assad, M. L., Tauk-Tornisielo, S. M., & Ceccato-Antonini, S. R. Release of potassium from rock powder by the yeast *Torulaspora globosa*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 55, p. 577-582, 2012.

ROUPHAEL, Y., e COLLA, G. Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1655, 2018.

Sarikhani, M. R., Oustan, S., Ebrahimi, M., & Aliasghar zad, N. Isolation and identification of potassium-releasing bacteria in soil and assessment of their ability to release potassium for plants. *European journal of soil science*, v. 69, n. 6, p. 1078-1086, 2018.

SILVA, U. C., MARRIEL, I. E., OLIVEIRA-PAIVA, C. A., GOMES, E. A., DE RESENDE, A. V., e LANA, U. D. P. Biossolubilização de potássio in vitro a partir da rocha fonolito por microrganismos do solo. 2015.

Solanki, M. K., Joshi, N. C., Singh, P. K., Singh, S. K., Santoyo, G., de Azevedo, L. C. B., & Kumar, A. From concept to reality: transforming agriculture through innovative rhizosphere engineering for plant health and productivity. *Microbiological research*, v. 279, p. 127553, 2024

Soponputtaporn, S., Srithaworn, M., Promnuan, Y., Srirat, P., & Chunchart, O. Indole-3-acetic acid producing yeasts in the phyllosphere of legumes: benefits for chili growth. **Trends in Sciences**, v. 21, n. 3, p. 7335-7335, 2024.

Sun, P. F., Fang, W. T., Shin, L. Y., Wei, J. Y., Fu, S. F., & Chou, J. Y. Indole-3-acetic acid-producing yeasts in the phyllosphere of the carnivorous plant *Drosera indica* L. *PloS one*, v. 9, n. 12, p. e114196, 2014.

TOMM, G. O. Indicativos tecnológicos para produção de canola no Rio Grande do Sul. 2007.

TRUEMAN, Clive N.; RODGERS, Kiri J.; McLELLAN, Iain S.; HURSTHOUSE, Andrew S. Geoquímica Inorgânica. In: **Enciclopédia de Ciência Analítica**. 2019. p. 271-282.

TSAI, S. M., e ROSSETTO, R. Transformações microbianas do fósforo. **Microbiologia do Solo**, 1992.

Universidade de São Paulo. Instituto de Geociências. Rochas Metamórficas: Xisto. Disponível em: <<https://didatico.igc.usp.br/rochas/metamorficas/xisto/>>. Acesso em: 30 jun. 2024.

USDA. United States Department of Agriculture. Oilseeds: World Markets and Trade. Out. 2021.

VASCONCELOS, A. C. F. D. **Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e de soja**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

VEJAN, P., ABDULLAH, R., KHADIRAN, T., ISMAIL, S., e NASRULHAQ BOYCE, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 573, 2016.

VILAR, C. C., e VILAR, F. C. M. (2013) Comportamento do fósforo em solo e planta. **Revista Campo Digital**, v. 8, n. 2, 2013.

Wang, X. L., Qiu, S. Y., Zhou, S. Q., Xu, Z. H., & Liu, X. T. Phosphate-solubilizing capacity of *Paecilomyces lilacinus* PSF7 and optimization using response surface methodology. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 454, 2023.

Xie, K., Cakmak, I., Wang, S., Zhang, F., & Guo, S. Synergistic and antagonistic interactions between potassium and magnesium in higher plants. **The Crop Journal**, v. 9, n. 2, p. 249-256, 2021.

ZÚÑIGA-SILGADO, D., RIVERA-LEYVA, J. C., COLEMAN, J. J., SÁNCHEZ-REYEZ, A., VALENCIA-DÍAZ, S., SERRANO, M., ... e FOLCH-MALLOL, J. L. Soil type affects organic acid production and phosphorus solubilization efficiency mediated by several native fungal strains from Mexico. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1337, 2020.

Anexo 1

Distribuição por gênero dos microrganismos utilizados no estudo.

As 72 leveduras analisadas no estudo encontram-se separadas por gênero indicadas pelas fatias do gráfico.

