

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO PARA A
CULTURA DA SOJA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Cezario Almeida Alves

**Itaqui, RS, Brasil
2017**

CEZARIO ALMEIDA ALVES

**SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO
PARA A CULTURA DA SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho

Itaqui, RS, Brasil
2017

CEZARIO ALMEIDA ALVES

**SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO
PARA A CULTURA DA SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em: 05 de dezembro de 2017.
Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho
Orientadora
Curso de Agronomia – UNIPAMPA

Prof^a. Dr^a. Adriana Pires Soares Bresolin
Curso de Agronomia – UNIPAMPA

Prof^a. Dr^a. Paulo Jorge de Pinho
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Dedico este trabalho aos meus pais, irmãos, minha esposa Quidia Evanise Ribeiro, meu filho e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia.

À minha família, meu pai Cezario Bertolucci Alves, minha mãe Maria Izabel Almeida Alves, por terem me dado a oportunidade de concluir mais este sonho em minha vida. Minha esposa Quidia Evanise Ribeiro por ter sido cúmplice e acreditando sempre no meu sucesso e me apoiando em todos os momentos. Ao meu filho que me transborda alegria quando sorri, dando-me forças apenas com um olhar para seguir a jornada. E aos meus irmãos André Almeida Alves e Izabel Almeida Alves.

Agradeço à Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho, orientadora que teve paciência e que me ajudou bastante a concluir este trabalho. Agradeço também aos meus professores que durante muito tempo me ensinaram e que insistiram o quanto estudar é bom, fazendo com que hoje eu estivesse aqui neste momento.

Aos meus amigos, Paulo Duarte, Eva Duarte, Tiago Bristes, Cleves Siqueira, Marcos Bonete, pelas alegrias, tristezas compartilhadas. Com vocês, as pausas entre um parágrafo e outro de produção melhora tudo o que tenho produzido na vida.

Aos meus antigos colegas, pra sempre amigos, Luis Pires, Albinha Marques, Yuri Lippert, João Bonetti, José Nilton, Gentil Felix, Thomaz Tellechea e Evelin de Lima.

Aos colegas adquiridos durante essa vida acadêmica, pela amizade, pelo incentivo e pelo apoio constantes.

À todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta pesquisa e conclusão deste sonho.

À todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

Fácil é ser colega, fazer companhia a alguém, dizer o que ele deseja ouvir. Difícil é ser amigo para todas as horas e dizer sempre a verdade quando for preciso. E com confiança no que diz.

Drummond de Andrade

RESUMO

SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO PARA A CULTURA DA SOJA

Autor: Cezario Almeida Alves

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho

Local e data: Itaqui, 05 de dezembro de 2017.

A rizosfera favorece a colonização radicular por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs), as quais podem oferecer importantes benefícios para a hospedeira. As RPCPs bactérias de vida livre no solo e que podem se associar com algumas plantas, desencadeando diversos benefícios para o crescimento da mesma. Com este trabalho, objetiva-se selecionar rizobactérias promotoras de crescimento de plantas de soja. As sementes de soja foram microbiolizadas com dez isolados rizobacterianos já pré-selecionados em trabalhos anteriores. O experimento foi realizado na Universidade Federal do Pampa – Campus Itaqui. As rizobacterianos já pré-selecionados em testes de germinação por Arns (2016), foram repicadas em placas de Petri contendo o meio MB1, e incubadas em BOD a 28°C por 24h. Para a microbiolização das sementes, foi preparada uma suspensão bacteriana em solução salina (NaCl 0,85%) a partir das rizobactérias, na concentração de OD₅₄₀=0,5 sendo ajustada no espectrofotômetro. Logo depois foi realizada a semeadura das sementes em potes, contendo substrato comercial Mecplant[®]. Por fim conduzido a casa de vegetação onde foi avaliada, Índice de velocidade de emergência, tamanho de plantas, números de folhas e matéria seca de parte aérea e raiz. Contudo, dos dez isolados testados nenhum promoveu o crescimento de plantas de soja.

Palavras-chave: Micro-organismos do Solo; Rizosfera; *Glycine max*.

ABSTRACT

SELECTION OF SOYBEAN GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA FOR SOYBEAN CULTIVATION

Author: Cezario Almeida Alves

Advisor: Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho

Place and date: Itaqui, december 05, 2017.

The rhizosphere facilitates root colonization by plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), which may offer important benefits for the host. They are bacteria of free life in the soil that can associate with some plants, unleashing several benefits for the plant growth. With this work, we aimed to select rhizobacteria that promote the growth of soybean plants. The experiment was carried out at the Federal University of Pampa - Itaqui Campus. The rhizobacteria were pricked out in Petri dishes containing MB1 media, and incubated in BOD at 28° C for 24h. For the microbiolization of the seeds, a bacterial suspension from rhizobacteria was prepared in saline solution (0.85% NaCl), in the concentration of OD540 = 0.5 and adjusted in the spectrophotometer. Soybean seeds were microbiolized with ten rhizobacterial isolates already pre-selected in previous studies. Soon, the seeds were sown in pots containing commercial substratum Mecplant[®]. Finally, we conducted the greenhouse where emergency speed, plant size, leaf numbers and dry matter of shoot and root were evaluated. However, none of the ten isolates tested promoted the growth of soybean plants.

Keywords: Soil microorganisms; Rhizosphere; *Glycine max*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Isolados rizobacterianos obtidos da rizosfera de plantas de soja de três pontos dos municípios de Uruguaiana/RS, Itaqui/RS e Maçambará/RS.....	15
Tabela 2: Efeito de rizobactérias na germinação e crescimento inicial de plantas de soja.	17

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5 CONCLUSÃO.....	17
REFERÊNCIAS.....	18

1 INTRODUÇÃO

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) apresentam alta afinidade de ocupação do ambiente rizosférico e capazes de desempenhar atividades relacionadas à promoção do desenvolvimento das plantas (ROMAGNOLI & ANDREOTE, 2016).

De acordo com Romeiro (2007) na rizosfera algumas bactérias encontram-se em maior abundância que outras. Muitas delas se beneficiam de compostos orgânicos liberados próximo as raízes de algumas plantas, exercendo num efeito benéfico e estimulante ao crescimento da planta e raízes em que estão inseridas. Para que uma bactéria seja considerada colonizadora deve haver uma forma de associação entre o sistema radicular e a bactéria, fazendo com que estas se beneficiem dos exsudados das raízes se estabelecendo e protegendo sua colônia da microbiota vizinha (KLOEPPER, 1996).

Os micro-organismos benéficos, simbiontes e não simbiontes podem influenciar o crescimento de plantas através do aumento na disponibilidade de nutrientes (KAVIMANDAN & GAUR, 1971; LIFSHITZ *et al.*, 1987), da produção de hormônios de crescimento como giberelina e auxina (KATZNELSON & COLEM, 1965; BROWN, 1972) e da supressão de micro-organismos deletérios da rizosfera de plantas (KLOPPER & SCHROTH, 1981).

Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) pode constituir uma alternativa biológica promissora aumentando a produtividade das culturas (COELHO *et al.*, 2007; MARQUES *et al.*, 2011; GUARÇONI, M.; VENTURA, 2011) com isso reduzindo os fertilizantes em agroecossistemas (SCHROTH, M. N. & HANCOCK, J. G. 1982). As RPCPs constituem um grande grupo divergente de bactérias sendo encontrados na rizosfera, nas superfícies radiculares e em associação com raízes (AHMAD, F., AHMAD, I. & KHAN, M. S. 2008)

Com este trabalho objetivou-se selecionar rizobactérias promotoras de crescimento de plantas de soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas

Entre os organismos mais estudados, as bactérias têm sido relatadas como agentes de biocontrole mais comuns e, dentre elas, as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas ou PGPR, abreviatura de seu nome em inglês *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* sempre tiveram papel de destaque, beneficiando às plantas por promoverem seu crescimento e/ou atuarem no controle biológico de fitopatógenos (KLOEPPER & SCHROTH, 1981).

A grande maioria das rizobactérias promotoras de crescimento de plantas pertence ao gênero *Pseudomonas*, espécie comprovadamente com alto índice de colonização em raízes e altamente móvel e sintetizante nos vasos condutores dos vegetais e o gênero *Bacillus* que possui capacidade protetiva para as células através da formação dos endósporos, permitindo com que a cultura permaneça em um maior período de tempo em condições de alto estresse para a planta, trabalhando com uma linha de biopromotores de crescimento (POWELL *et al.*, 1994)

Quando aplicadas ao solo as rizobactérias, podendo ser em formulações simples ou misturas de inoculantes, as mesmas poderão causar diferentes efeitos no desenvolvimento das plantas, tais como, aumentar emergência das plântulas a germinação das sementes, e beneficiarem o seu crescimento (LAZZARETTI & BETTIOL, 1997).

Alguns fatores de promoção do crescimento vegetal se dá pela fixação biológica de nitrogênio, síntese de hormônios e outras moléculas, solubilização de nutrientes proporcionando o aumento da oferta de fósforo biodisponível para absorção pelas plantas (GLICK, 1995; VESSEY, 2003; ADESEMOYE *et al.*, 2010; HUNGRIA *et al.*, 2010; CANELLAS *et al.*, 2015).

Vários trabalhos têm demonstrado o potencial de rizobactérias na promoção de crescimento de plantas. Pais *et al.* (2016) avaliaram o efeito de 44 bactérias provenientes de solos cultivados com cucurbitáceas no desenvolvimento de plântulas de melancia cv. Crimson Sweet. Foi verificado que o isolado UNEB 55 proporcionou aumento no comprimento e matéria seca da parte aérea e radicular, já

os isolados UNEB 05, UNEB 27, UNEB 53 e UNEB 57 induziram aumento no comprimento da parte aérea, sem efeito nas demais variáveis.

Freitas e Vildoso (2004), avaliaram o efeito de rizobactérias na promoção de crescimento de cítrus. Foram testados 10 isolados de *Pseudomonas* do grupo *fluorescente*, 13 de *Bacillus* e sete de outras bactérias rizosféricas em porta-enxertos utilizados na citricultura. Dependendo do porta-enxerto, sete isolados de *Pseudomonas*, um de *Bacillus* e um de outra bactéria rizosférica tiveram efeito benéfico sobre a matéria seca de raízes ou de parte aérea.

Existem relatos da promoção de crescimento por rizobactérias na cultura de soja. A promoção do crescimento está ligada a fatores como a maior produção de grãos, maior germinação em casa de vegetação e no campo, melhor absorção dos nutrientes, aumento tanto no peso seco quanto na altura dos cultivares dentre outros (ARAUJO & HUNGRIA, 1999). Ratz *et al.*(2017), avaliaram o potencial biotecnológico de bactérias do gênero *Bacillus* na promoção do crescimento de soja e milho. Foram testadas duas formulações: inóculo 1, contendo *B. subtilis* e *B. licheniformes* e inóculo 2, *B. subtilis*, *B. licheniformes*, *B. amylolichifaciens* e *B. cereus*. Os resultados indicaram que as formulações utilizadas apresentaram potencial biotecnológico para incrementar o desenvolvimento e a nutrição das plantas de milho e soja.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e na casa de vegetação da Universidade Federal do Pampa – Campus Itaqui.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 11 tratamentos sendo um de controle e cinco repetições.

Sementes de soja foram microbiolizadas com dez isolados rizobacterianos já pré-selecionados em testes de germinação por Arns (2016). Foram testados 47 isolados rizobacterianos, divididos em dois grupos, o primeiro com 30 isolados e o segundo com 17 isolados. A seleção se deu de 10 isolados pelo motivo que apresentaram maior potencial propagativo e para controle do Mofo Branco, (Tabela 1).

Tabela 1 – Isolados rizobacterianos obtidos da rizosfera de plantas de soja de três municípios de Uruguaiana/RS, Itaqui/RS e Maçambará/RS.

Município	Ponto de coleta	Isolado
Uruguaiana/RS	P1	U4; U13
Itaqui/RS	P2	I1; I14; I16
Maçambará/RS	P3	M3; M6; M8; M9; M10

Fonte: Arns (2016).

As sementes utilizadas para os testes foram da empresa Brasmax, cultivar Ponta 7166RSF IPRO safra 2015/2016.

As rizobactérias foram repicadas em placas de Petri contendo o meio MB1 (Meio Base + glucose 0,1%) líquido (KADO & HESKETT, 1970), composto por Sacarose (10,0 g), Caseína ácida hidrolisada (8,0 g), Extrato de Levedura (4,0 g), KH_2PO_4 (anidro) (2,0 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,3 g) e Água destilada 1000 mL, e submetidas à condições controladas em câmara BOD a 28°C por 24h para favorecer o crescimento das colônias bacterianas (modificado de ROMEIRO, 2007).

Para o tratamento das sementes com as rizobactérias, estas foram desinfestadas com hipoclorito de sódio à 1,5 % sob imersão por 30 segundos,

seguida de tríplice lavagem com água esterilizada. Após a limpeza, as sementes foram dispostas sobre papel toalha para secagem.

Para a microbiolização das sementes, foi preparada uma suspensão bacteriana em solução salina (NaCl 0,85%) a partir das rizobactérias, na concentração de $OD_{540}=0,5$ sendo ajustada no espectrofotômetro.

A quantia de 15 sementes foi disponibilizada para cada tratamento e logo após imersas na suspensão bacteriana, onde foi mantida sob contínua agitação, em agitador rotatório de plataforma a 120 rpm por 5 minutos (modificado de BEZERRA *et al.*, 2013).

Logo depois da microbiolização realizou-se a semeadura onde foram semeadas três sementes por potes, este continha o volume de 400 mL, contendo substrato comercial Mecplant[®].

O experimento foi conduzido à casa de vegetação, realizada irrigação diária com piseta, sendo avaliado: índice de velocidade de emergência (IVE) até o 14^o dia após a primeira emergência, na sequencia foi realizado o desbaste de duas plantas por pote, seguindo as avaliações de altura de plantas (AP) sendo avaliada com régua de plástico escalonada, números de folhas (NF) e matéria seca de parte aérea (MSPA) e matéria seca de raiz (MSR) após 55 dias.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F($p \leq 0,05$), e as médias de cada tratamento foram agrupadas pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade com o auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos dez isolados rizobacterianos testados nenhum apresentou efeito significativo no índice de velocidade de emergência (IVE), na altura de plantas (AP), número de folhas (NF), matéria seca de parte aérea (MSPA) e matéria seca de raiz (MSR) (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito de rizobactérias na germinação e crescimento inicial de plantas de soja.

Tratamentos	IVE	AP (cm)	NF	MSPA (g)	MSR (g)
I1	0,192a	31,9a	7,0a	2,6a	0,67a
I14	0,146a	25,4a	6,6a	1,9a	0,51a
I16	0,143a	33,1a	7,3a	2,2a	0,52a
M3	0,223a	30,7a	7,6a	2,5a	0,68a
M6	0,237a	32,6a	7,0a	2,4a	0,65a
M8	0,171a	27,1a	8,4a	2,0a	0,54a
M9	0,210a	33,2a	8,6a	2,4a	0,60a
M10	0,197a	32,5a	8,6a	2,4a	0,62a
U4	0,208a	30,1a	8,0a	2,5a	0,80a
U13	0,205a	29,2a	7,8a	2,5a	0,69a
Testemunha	0,184a	31,4a	8,4a	2,5a	0,70a

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott à 5% de probabilidade. IVE: índice de velocidade de emergência; NF: número de folhas; MSPA: matéria seca de parte aérea; MSPR: matéria seca de raiz.

Fatores da composição mineral do solo podem ser limitantes na competição entre bactérias, podendo resultar em ausência de colonização radicular (Freitas *et al.* 2003 apud Sottero *et al.*; 2006) o que pode explicar o fato de nenhuma das bactérias testadas promoveram o crescimento de plantas de soja. Outro fator seria o fato que os micro-organismos introduzidos nem sempre são capazes de se mover do local de inoculação, para se estabelecerem efetivamente na rizosfera e no rizoplano. Um dos aspectos responsáveis por essa ineficiência seriam as condições ambientais (Suslow, 1982 apud Sottero *et al.*; 2006).

5 CONCLUSÃO

Os isolados rizobacterianos testados não apresentam potencial de promoção do crescimento de plantas da cultivar Ponta 7166RSF IPRO de soja.

REFERÊNCIAS

ADESEMOYE, A. O., TORBERT, H. A. & KLOEPPER, J. W. 2010. Increased plant uptake of nitrogen from ¹⁵N-depleted fertilizer using plant growth-promoting rhizobacteria. **Applied Soil Ecology**, p.46-58.

AHMAD, F., AHMAD, I. & KHAN, M. S. 2008. Screening of free living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiology Research**, p.163-181.

ARAUJO, F. F. & HUNGRIA M. 1999. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*B. elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p.34, p.1633-1643.

ARNS, R. B. **Efeitos de rizobactérias no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* e na germinação e sanidade de sementes de soja**. Trabalho de Conclusão de Curso. UNIPAMPA. ITAQUI- RS. p.33, 2016.

ANDREOTE, F.D. **Microbiologia do Solo**. 2 ed. Piracicaba: Esalq, 2016. p. 47 a 60.

BEZERRA, G. A.; MACEDO, D. A.; NASCIMENTO, I. O.; SOUSA, T. P.; COSTA, N. B.; SOUSA, L. F. R. A. Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitopatógenos em sementes de soja variedade BRS Valiosa RR. **Agrossistemas**, v. 5, n. 1, p. 68-73, 2013.

CANELLAS, L. P., SILVA, S. F., OLK, S. C. & OLIVARES, F. L. 2015. Foliar application of plant growth-promoting bacteria and humic acid increase maize yields. **Journal of Food Agriculture Environment**, p.13, p.131-138.

COELHO, R.I.; LOPES, J.C.; CARVALHO, A.J.C.de; AMARAL, J.A.T.do; MATTA, F. de P. Estado nutricional e características de crescimento do abacaxizeiro 'Jupi' cultivado em Latossolo Amarelo distrófico em função da adubação com NPK. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.6, p.1696-1701, 2007.

FERREIRA, D. F. **Sisvar** - sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA, p. 19, 1998.

FREITAS, S. S.; VILDOSO, C.I. A. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.29. p.987-994, 2004.

GUARÇONI M., A.; VENTURA, J.A. Adubação N-P-K e o desenvolvimento, produtividade e qualidade dos frutos do abacaxi 'Gold' (MD-2). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.35, n.4, p.1367-1376, 2011.

GLICK, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, p.41, p.109-114.

HUNGRIA, M., CAMPO, R. J., SOUZA, F. M. & PEDROSA, F. O. 2010. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasiliense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, p.331-420.

LAZZARETTI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia agricola**, v. 54, n. 1-2, 1997.

MARQUES, L.S.; ANDREOTTI, M.; BUZETTI, S.; ISEPON, J. dos S. Produtividade e qualidade de abacaxizeiro cv. Smooth Cayenne, cultivado com aplicação de doses e parcelamentos do nitrogênio, em Guaraçai-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.3, p.1004-1014, 2011.

POWELL, R.G.; TEPASKE, M.R.; PLATTNER, R. D.; WHITE, J. F.; CLEMET, S. L. Isolation off reserveratrol from *festuca versuta* and evidence for the widespread occurence off this stilbene in the Poaceae. **Phytochemistry**, v.35, p.335-338, 1994.

RATZ, R. J.; PALÁCIO, S. M.; QUIÑONES, F. R. E.; VICENTINO, R. C.; MICHELIM, H. J.; RICHTER, L. M. Potencial biotecnológico de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de milho e soja. **Engevista**, v. 19, n.4, p.890-905. 2017.

ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de doenças de plantas** – Procedimentos. Viçosa: Editora UFV, 2007.

ROMAGNOLI, E. M.; ANDREOTE, F.D. Rizosfera. In: CARDOSO, E.J.B.N.; ANDREOTE, F.D. **Microbiologia do Solo**. 2 ed. Piracicaba: Esalq, 2016. p. 47-60.

SOTTERO, A. N.; FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; TRANI, P. E.; Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira da Ciências do Solo**. v.30, p.225-234, 2016.

SUSLOW, T. V. Role off root colonizing bactéria in plant growth. In: MOUNT, M. S. & LARW, G. H.; eds. **Phytopathogenic Prokaryotes**. London, Academic Press, v.2, p.187-223.1982.

VESSEY, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, 255, 571-586.