

**Efeito do Fósforo (P) no Solo
Sobre o Microbioma de Raízes
de Genótipos de Milho**



ISSN 1679-0154
Dezembro, 2016

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 142

Efeito do Fósforo (P) no Solo Sobre o Microbioma de Raízes de Genótipos de Milho

Eliane Aparecida Gomes
Ubiraci Gomes de Paula Lana
Christiane Abreu de Oliveira Paiva
Lauro José Moreira Guimarães

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2016

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia Maria Borges

Damasceno, Maria Lúcia Ferreira Simeone, Monica Matoso

Campanha, Roberto dos Santos Trindade, Rosângela Lacerda de

Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Eliane Aparecida Gomes

1ª edição

Versão Eletrônica (2016)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Efeito do fósforo (P) no solo sobre o microbioma de raízes de genótipos de milho / Eliane Aparecida Gomes ... [et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2016.

25 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 142).

1. Nutrição vegetal. 2. *Zea mays*. 3. Microbiologia do solo. I. Gomes, Eliane Aparecida. II. Série.

CDD 631.8 (21. ed.)

© Embrapa 2016

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	12
Conclusões	18
Agradecimentos	19
Referências	19

Efeito do Fósforo (P) no Solo Sobre o Microbioma de Raízes de Genótipos de Milho

Eliane Aparecida Gomes¹

Ubiraci Gomes de Paula Lana²

Christiane Abreu de Oliveira Paiva³

Lauro José Moreira Guimarães⁴

Resumo

Dentre os principais fatores que limitam a produção de milho em áreas de Cerrado no Brasil destacam-se a acidez do solo, a toxicidade de alumínio e um baixo nível de nutrientes disponíveis, especialmente fósforo (P). As plantas desenvolveram várias estratégias para melhorar a aquisição de P, incluindo a capacidade de associar-se com microrganismos do solo que potencialmente aumentam a absorção de nutrientes e melhoram a nutrição das plantas. O objetivo deste estudo foi caracterizar as comunidades bacterianas da endosfera e rizosfera de genótipos de milho contrastantes para eficiência no uso de P cultivados em solos com baixo e alto

¹Bióloga, D.Sc. em Genética, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Rod MG 424, km 65, 35700-191 Sete Lagoas, MG, eliane.a.gomes@embrapa.br

²Químico, Mestre em Genética, Analista da Embrapa Milho e Sorgo, Rod MG 424, km 65, 35700-191 Sete Lagoas, MG, ubiraci@cnpms.embrapa.br

³Eng.-Agrôn., D.Sc. em Biologia Vegetal, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Rod MG 424, km 65, 35700-191 Sete Lagoas, MG, christiane.paiva@embrapa.br

⁴Eng.-Agrôn., Ph.D., Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Rod MG 424, km 65, 35700-191 Sete Lagoas, MG, lauro.guimaraes@embrapa.br

nível deste nutriente, em condições de campo, por tecnologia de sequenciamento de nova geração Illumina MiSeq. Foi observada uma clara separação da comunidade bacteriana em função do nível de P do solo seguido da localização na rizosfera/endosfera e uma pequena, porém estatisticamente significativa, fração da variação da diversidade bacteriana na rizosfera foi atribuída ao genótipo em alto P. *Proteobacteria* foi o filo predominante na rizosfera e raiz e um decréscimo na razão de *Proteobacteria/Acidobacteria* em baixo P foi observado, demonstrando o efeito positivo do estresse de P em *Acidobacteria*. O nível de P também influenciou a distribuição da comunidade de α - e β -*Proteobacteria*, que foram enriquecidas em baixo P, incluindo *Rhizobiaceae* e *Burkholderiaceae*, respectivamente, e de γ -*Proteobacteria*, enriquecidas em solo de alto P, principalmente as famílias *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonaceae*. A maior parte das OTUs (Unidade Taxonômica Operacional) dominantes foram classificadas dentro de famílias cujos membros são capazes de solubilizar fosfatos minerais, mostrando a influência do P sobre a comunidade de bactérias relacionadas aos ciclos biogeoquímicos deste nutriente no solo. Este conhecimento proporciona uma melhor compreensão de como as comunidades microbianas são adaptadas às condições de solo e genótipos, podendo levar ao aumento da produção agrícola através do uso mais eficiente de fertilizantes de P.

Palavras-chave: Endofíticos, milho (*Zea mays*), microbioma, interações planta-microrganismos, fósforo, rizosfera.

Effect of Phosphorus (P) on Soil on Root Microbiome of Maize Genotypes

Eliane Aparecida Gomes¹

Ubiraci Gomes de Paula Lana²

Christiane Abreu de Oliveira Paiva³

Lauro José Moreira Guimarães⁴

Abstract

Soil acidity, aluminum toxicity, and a generalized low level of available nutrients, especially phosphorus (P), are major limiting factors to maize production in Savanna (Cerrado) areas in Brazil. Plants have developed several strategies to improve P acquisition, including the ability to associate with soil microorganisms that potentially enhance P uptake and plant nutrition. The aim of this study was to characterize the root endosphere and rhizosphere bacterial communities of maize genotypes with contrasting P efficiency grown in low and high P soils under field conditions by Illumina MiSeq high-throughput sequencing. We conclude that the P soil level was the major driver of differences in the distribution and composition of bacterial communities followed by the location in the rhizosphere/endosphere and a small, but statistically significant fraction of variation in bacterial diversity could be attributed to the genotype. *Proteobacteria* was the predominant phylum in rhizosphere and root and a decrease of the ratio of *Proteobacteria/Acidobacteria* in the low P soil was observed,

showing the positive effect of the P stress on *Acidobacteria*. The soil P level also influenced the bacterial community distribution in rhizosphere since members of *-* and *-Proteobacteria* were enriched in the low P, including *Rhizobiaceae* and *Burkholderiaceae*, respectively and *-Proteobacteria*, mainly the families *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonaceae*, enriched in high P soil. Most of the top bacterial OTUs (Operational Taxonomic Unit) were classified to families with members capable of solubilizing mineral phosphates, showing an influence of P soil status on the community of bacteria related to soil P biogeochemical cycling. This knowledge gives a better understanding of how microbial communities are adapted to the local soil conditions and crop genotypes, and can lead to increased agricultural production through more efficient use of P fertilizer.

Keywords: Endophytic, maize (*Zea mays*), microbiome, plant-microbe interactions, phosphorus, rhizosphere.

Introdução

O fósforo (P) é um dos nutrientes limitantes para as culturas em áreas de Cerrado no Brasil, apresentando uma baixa eficiência do uso pelas plantas, que pode ser inferior a 10% (RAGHOTHAMA; KARTHIKEYAN, 2005; FAGERIA, 2009). Essa baixa eficiência se deve ao processo de fixação de P, formando complexos insolúveis com os constituintes do solo e/ou precipitação com Al_3^+ e Fe_3^+ livre. Portanto, para obter rendimentos elevados em culturas como a do milho, são necessárias altas doses de fertilizantes químicos, o que aumenta significativamente o custo de produção (NOVAIS; SMYTH, 1999; BALIGAR et al., 2001).

Este cenário indica que pesquisas voltadas à obtenção de cultivares com maior eficiência de utilização de P podem levar a um sistema de produção agrícola sustentável e competitivo. A eficiência de utilização de P em milho é composta pela eficiência de aquisição e de utilização interna, sendo a aquisição mais importante do que a utilização interna em solos com baixos níveis de P dos latossolos brasileiros (PARENTONI; SOUZA JÚNIOR, 2008). Dentre os principais mecanismos relacionados ao aumento da eficiência de aquisição de P estão a capacidade do genótipo de secretar compostos orgânicos na rizosfera (BALIGAR; FAGERIA, 1997; LYNCH, 2011), alterações da morfologia e arquitetura da raiz (SOUSA et al., 2012) e a capacidade do genótipo de associar com microrganismos do solo (SHARMA et al., 2013).

As raízes de milho exsudam compostos orgânicos como açúcares, ácidos orgânicos, nucleosídeos, mucilagem e aminoácidos, liberados passivamente ao longo de gradientes de concentração, que podem atrair microrganismos para a rizosfera e para o interior da raiz, a endosfera (VACHERON et al., 2013). Portanto, estes são ambientes altamente dinâmicos e interações complexas entre os genótipos e o solo levam a mudanças na composição da comunidade microbiana (AIRA et al., 2010). Estudos anteriores demonstraram a influência dos genótipos de milho nas comunidades microbianas da rizosfera, pois os exsudatos radiculares dependem do genótipo da planta e modificam a estrutura, a composição e o crescimento da microbiota (PICARD; BOSCO, 2005; PEIFFER et al., 2013). Em outros casos, fatores como as propriedades do solo, correção com fertilizantes, estado nutricional e estágio de desenvolvimento da planta hospedeira, além de outros fatores ambientais, têm maior efeito sobre a comunidade microbiana

do que o dos genótipos (SINGH et al., 2007; CASTELLANOS et al., 2009; CAVAGLIERIA et al., 2009; LI et al., 2014; BAKKER et al., 2015). Desse modo, a composição da comunidade microbiana nos solos pode ser influenciada por uma série de fatores abióticos e bióticos, que modificam significativamente a estrutura das comunidades microbianas e, portanto, o crescimento e a produtividade das plantas.

Com base nesses resultados, o presente estudo tem como objetivo a caracterização do microbioma da endosfera e rizosfera de genótipos de milho, contrastantes para eficiência no uso de P, cultivados em solos com baixo e alto nível deste nutriente, em condições de campo, por tecnologia de sequenciamento de DNA de nova geração Illumina MiSeq. Além disso, a F1 proveniente do cruzamento entre estas duas linhas foi avaliada para verificar se o efeito de heterose do híbrido poderia selecionar uma população microbiana diferente. Esses resultados podem ter implicações em áreas como o melhoramento de plantas e desenvolvimento de inoculantes e podem ajudar a desenvolver estratégias para melhorar os benefícios desses microrganismos aplicáveis a sistemas agrícolas sustentáveis, especialmente em solos ácidos com P baixo, tipicamente encontrados no Cerrado brasileiro.

Material e Métodos

Experimento de Campo e Amostragem

O experimento foi realizado em um Latossolo vermelho durante o verão (dezembro a março de 2013) na Embrapa Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil, na latitude 19°28'S e longitude 44°15'W, a uma altitude de 732 m.

O clima local é o Aw, de acordo com a classificação de Köppen, com uma temperatura média de 22 °C, precipitação de 1.300 milímetros e umidade relativa média de 70%. O experimento foi um fatorial 3 x 2, com três genótipos de milho e dois níveis de P no solo como fatores, utilizando um delineamento em blocos casualizados com quatro repetições em cada tratamento. Foram usadas duas linhagens desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento de Milho da Embrapa contrastantes para eficiência no uso de P (linhagem L3, eficiente para uso de P e linhagem L22, ineficiente) e um cruzamento F1 entre estas linhagens (PARENTONI et al., 2010). Cada parcela experimental consistiu-se de 2 linhas com 5 m de comprimento, 0,8 m entre linhas e 0,2 m entre plantas. O solo onde os experimentos foram realizados apresentou níveis contrastantes de P, com base em avaliações utilizando o extrator Mehlich 1: uma área com baixo P (4 mg P.dm⁻³) e uma área com alto P (30 mg P.dm⁻³). As amostras consistiram das raízes e do solo rizosférico aderido às raízes coletados sessenta dias após a semeadura, durante a fase de florescimento. Cada repetição foi proveniente das raízes de cinco plantas escolhidas aleatoriamente misturadas individualmente em sacos plásticos limpos para homogeneizar o solo. No laboratório, 5 g (peso fresco) das raízes finas de cada repetição com solo rizosférico aderido foram cortadas separadamente, agitadas sobre uma peneira para remover o solo solto, e lavadas em uma solução de 0,1% (p/v) de pirofosfato de sódio, durante 60 minutos em um agitador horizontal. As raízes foram separadas e as soluções de lavagem contendo as amostras de solo rizosférico foram centrifugadas a 6.000 × g durante 15 min a 4 °C, e armazenadas a -80 °C até a extração de DNA. No total, foram avaliadas 48 amostras: três genótipos, dois níveis de P, dois locais (rizosfera e endosfera) e quatro repetições.

Extração e Sequenciamento de DNA por Illumina MiSeq

As raízes lavadas superficialmente e livres de solo foram maceradas em nitrogênio líquido e o DNA extraído utilizando o kit DNeasy (Qiagen, Alemanha). Para a extração de DNA metagenômico das amostras da rizosfera, foi utilizado o kit de isolamento de DNA PowerSoil (Mobio Laboratories, Inc., CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante.

O DNA foi quantificado usando um Qubit 2,0 Fluorímetro (Life Technologies, NY, EUA) e diluído para a concentração de 10 ng mL⁻¹. Um fragmento de 291 pb da região hipervariável V4 do gene do rRNA 16S foi amplificado utilizando os iniciadores 515F e 805R (CAPORASO et al., 2011) e as amostras foram sequenciadas no DOE-JGI (Department of Energy, Joint Genome Institute, CA, EUA), utilizando a plataforma Illumina MiSeq (Illumina, Inc. EUA).

Análise das Sequências

As sequências foram analisadas de acordo com o protocolo padrão do pacote QIIME (*Quantitative Insights into Microbial Ecology*) (CAPORASO et al., 2010) que inclui a etapa de sobreposição de pares (fitas senso e antisenso), retirada de iniciadores e de sequências de baixa qualidade e agrupamento de OTUs (Unidade Taxonômica Operacional), seguido do classificador RDP (*Ribosomal Database Project*) implementado em QIIME para a classificação taxonômica. O pacote QIIME foi usado para as análises de β -diversidade e a comparação entre as amostras foi realizada mediante a análise de coordenadas principais (PCoA) utilizando a matriz de distância do Unifrac ponderado (CHEN et al., 2012).

Resultados e Discussão

Foram obtidas três milhões de sequências de 16S rDNA para todos os tratamentos e, após a remoção daquelas de baixa qualidade, restaram um total 2,9 milhões de sequências em 30.000 OTUs, variando de 14.472 a 129.000 por amostra com totais de 2,2 milhões e 700.000 nas amostras de solo e raízes, respectivamente. O número de sequências bacterianas foi mais baixo na endosfera do que na rizosfera, porque os iniciadores utilizados também amplificaram genes de rRNA mitocondrial e plastidial, que foram removidos durante o processamento inicial de sequências.

Buscando entender os fatores que afetam a composição do microbioma associado à raiz de milho, a β -diversidade (estimativa da diversidade entre os tratamentos) foi avaliada usando a matriz de distância do Unifrac ponderado, que considera as afiliações filogenéticas e abundância relativa das OTUS. Esta análise mostrou uma clara separação da comunidade bacteriana em quatro grupos de acordo com o nível de P no solo, que explicou 30,5% e a localização na rizosfera ou endosfera, explicando 20,9% da distribuição (Figura 1A e B). Adicionalmente, para as amostras de solo, foi observada uma interação pequena, mas significativa, entre o nível de P e o genótipo. Neste caso, em alto P, os dois primeiros eixos separaram os três genótipos e o terceiro eixo separou o genótipo L22 dos outros (Figura 1B).

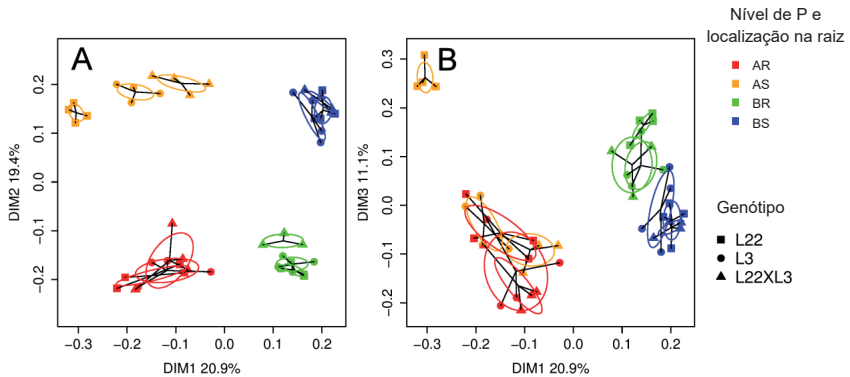


Figura 1. Ordenação das amostras por coordenadas principais (PCoA) para combinações de nível de P, genótipos e localização na rizosfera ou endosfera. A: alto P; B: baixo P; R: raiz (endosfera); S: solo (rizosfera). Subfiguras numeradas para diferentes dimensões: eixo 1 vs 2 (A) e eixo 1 vs 3 (B).

O efeito de propriedades do solo, como a disponibilidade de carbono e de nutrientes, pH e salinidade, além da adição de fertilizantes sobre a comunidade bacteriana tem sido relatado na literatura (JANGID et al., 2008). Nos sistemas agrícolas, diferentes aplicações de fertilizantes podem alterar a estrutura da comunidade microbiana, exercendo efeitos positivos ou negativos na qualidade do solo. Wang et al. (2016) relataram que o nível de P no solo alterou a abundância relativa dos filos *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes* e *Verrucomicrobia* em trigo, enquanto Mander et al. (2012) demonstraram que o nível de P afetou a estrutura da comunidade de microrganismos solubilizadores de P, como *Actinobacteria*, *Pseudomonadaceae* e *Moraxellaceae* no solo.

Embora os efeitos do genótipo e adubação sejam importantes separadamente, a complexa interação entre esses fatores pode determinar a estrutura da comunidade microbiana da rizosfera. Neste sentido, a fertilização pode modificar a composição de exsudatos das raízes, o que levaria a diferentes comunidades microbianas que podem, reciprocamente, alterar o estado nutricional da planta (AIRA et al., 2010; TANG et al., 2016).

Composição Taxonômica

Em geral, os membros do filo *Proteobacteria* foram dominantes em todos os tratamentos (Figura 2) como também observado em outros estudos com milho (AIRA et al., 2010; CHAUHAN et al., 2011; GARCIA-SALAMANCA et al., 2013; GOMES et al., 2003; LI et al., 2014; PEIFFER et al., 2013). De acordo com Chauhan et al. (2011) e Garcia-Salamanca et al. (2013), *Proteobacteria* domina a rizosfera por apresentarem taxas de crescimento relativamente rápidas que respondem às fontes de carbono, sendo consideradas copiotróficas. Ao contrário, as bactérias oligotróficas são mais abundantes em solos com menor disponibilidade de recursos, apresentam baixas taxas de crescimento, sendo selecionadas em ambientes onde os microrganismos são expostos ao estresse ambiental (FIERER et al., 2007).

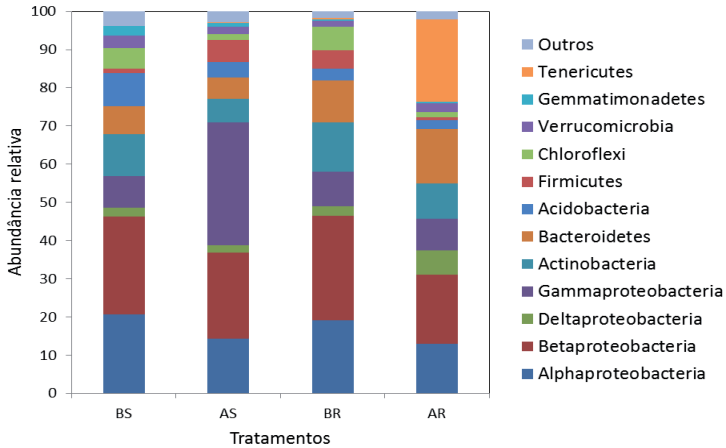


Figura 2. Abundância relativa (porcentagem do total de sequências 16s rDNA) do filo *Bacteria* para combinações de nível de P e localização na rizosfera ou endosfera. H: alto P; L: baixo P; R: raiz (endosfera); S: solo (rizosfera).

Uma observação interessante do nosso estudo foi a diminuição da proporção de *Proteobacteria*/*Acidobacteria* em baixo P em comparação com tratamentos com alto P, mostrando o efeito positivo do estresse de P em *Acidobacteria*. A razão *Proteobacteria*/*Acidobacteria* tem sido sugerida um indicador do nível trófico de solos, favorecendo *Proteobacteria* em condições ricas em nutrientes (GOTTEL et al., 2011).

A diferença na proporção de *Proteobacteria* entre as amostras de alto e baixo nível de P no solo foi principalmente por causa da prevalência de γ -*Proteobacteria* (32,2%) em solo de alto P, incluindo *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae*, enriquecidas em L22 e L3, respectivamente (Figura 3). Os membros destas famílias são conhecidos colonizadores de milho (GARCIA-SALAMANCA et al., 2013; LI et al.,

2014; MCINROY; KLOEPPER, 1995; RIJAVEC et al., 2007) e sua presença em um sistema agrícola pode indicar melhor fertilidade do solo (WAKELIN et al., 2012). Por outro lado, as famílias de α -*Proteobacteria* (*Rhizobiaceae* e *Sphingomonadaceae*) e β -*Proteobacteria* (*Burkholderiaceae*) foram enriquecidas nas amostras de baixo P (Figura 3). De um modo geral, membros dessas famílias são bactérias oligotróficas de crescimento lento que podem sobreviver em ambientes com baixas concentrações de carbono por serem mais eficientes na competição por recursos. O gênero *Burkholderia* tem sido amplamente encontrado em associação com o milho cultivado em regiões tropicais, incluindo a espécie *B. tropica* e *B. unamae* (CABALLERO-MELLADO et al., 2004; REIS et al., 2004). São rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, solubilizadoras de P, catabolicamente versáteis, sendo capazes de degradar compostos recalcitrantes e, assim, sobreviver em ambientes com disponibilidade limitada de nutrientes (SUAREZ-MORENO et al., 2012) o que explica a sua presença no solo de baixo P.

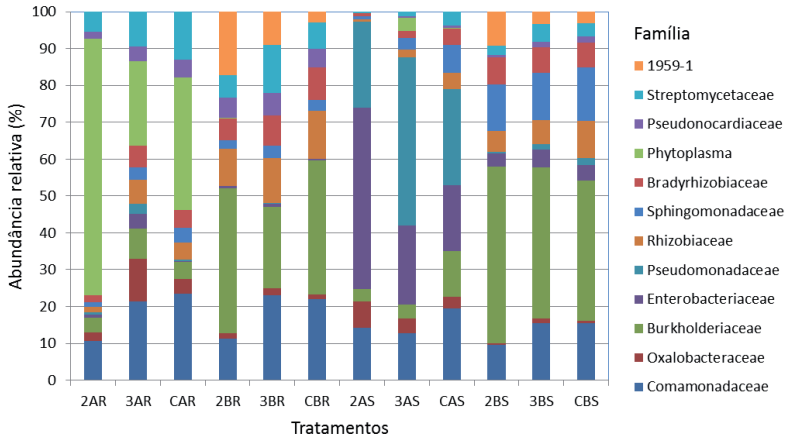


Figura 3. Abundância relativa das OTUs mais abundantes distribuídas dentro das famílias de bactérias para as combinações de nível de P, genótipos e localização na rizosfera ou endosfera. 2: Linhagem de milho L22; 3: Linhagem de milho L3; C: F1 das linhagens L3xL22; A: Alto P; B: Baixo P; R: Raiz (endosfera); S: Solo (rizosfera).

Composição da Comunidade Solubilizadora de P

Os resultados deste estudo mostram o efeito do teor de P na microbiota rizosférica e endofítica de milho. As OTUs mais abundantes classificadas neste estudo variaram entre os tratamentos, indicando que elas estão sob forte pressão de seleção de P. Curiosamente, os gêneros *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Rhizobium*, *Erwinia* e *Bacillus*, relatados na literatura como bactérias eficientes na solubilização de P (BARROSO; NAHAS, 2005; OLIVEIRA et al., 2009; WAKELIN et al., 2012), com exceção de *Bacillus*, todos estão representados entre as OTUs mais abundantes. Embora pouco representadas no presente estudo, estirpes de *Bacillus* altamente eficientes na solubilização de P foram

previamente isoladas e cultivadas na mesma área experimental do presente trabalho (OLIVEIRA et al., 2009). Provavelmente estas bactérias gram-positivas são recalcitrantes à lise da parede celular (PEREIRA et al., 2011), o que explica os baixos números de OTUs de *Bacillus* identificadas no presente estudo. Nós observamos que a fertilização com P apresentou um papel significativamente importante na formação da estrutura e composição taxonômica das comunidades bacterianas capazes de solubilizar fosfatos minerais, com o aumento de grupos específicos de solubilizadores de P de γ -*Proteobacteria* em alto P e α - e β -*Proteobacteria* nos tratamentos de baixo P. Na verdade, a influência da fertilização com fosfato sobre as comunidades bacterianas já foi reconhecida, mas como ocorre a seleção dessas comunidades ainda não é claro. Estudos de grupos funcionais de microrganismos aliados ao uso de fosfatos naturais insolúveis poderão contribuir para uma maior compreensão da estrutura da comunidade microbiana em milho e como espécies microbianas importantes desempenham um papel no ciclo biogeoquímico de P no solo.

Conclusões

Os resultados deste estudo proporcionaram uma maior compreensão das comunidades microbianas nativas adaptadas a condições de solo com diferentes níveis de P, independentemente do genótipo utilizado. Este conhecimento pode orientar as práticas de manejo do solo para favorecer microrganismos do solo envolvidos no ciclo de P, além de proporcionar a seleção de inoculantes microbianos para melhorar o estado nutricional da planta em uma agricultura de baixo impacto ao meio ambiente.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fapemig, da Embrapa e do CNPq.

Referências

AIRA, M.; GOMEZ-BRANDON, M.; LAZCANO, C.; BAATH, E.; DOMINGUEZ, J. Plant genotype strongly modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 12, p. 2276-2281, 2010.

BAKKER, M. G.; CHAPARRO, J. M.; MANTER, D. K.; VIVANCO, J. M. Impacts of bulk soil microbial community structure on rhizosphere microbiomes of *Zea mays*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 392, p. 115-126, 2015.

BALIGAR, V. C.; FAGERIA, N. K. Nutrient use efficiency in acid soil: nutrient management and plant use efficiency. In: MONITZ, A. C.; FURLANI, A. M. C.; FAGERIA, N. K.; ROSOLEM, C. A.; CANTARELLS, H. (Ed.). **Plant-soil interactions at low pH: sustainable agriculture and forestry production**. Campinas: Brazilian Soil Science Society, 1997. p. 75-93.

BALIGAR, V. C.; FAGERIA, N. K.; HE, Z. L. Nutrient use efficiency in plants. **Communications and Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 32, p. 921-950, 2001.

BARROSO, C. B.; NAHAS, E. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble

phosphates. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 29, p. 73-83, 2005.

CABALLERO-MELLADO, J.; MARTINEZ-AGUILAR, L.; PAREDES-VALDEZ, G.; SANTOS, P. E. *Burkholderia unamae* sp. nov., an N₂-fixing rhizospheric and endophytic species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 1165-1172, 2004.

CAPORASO, J. G.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; BERGLYONS, D.; LOZUPONE, C. A.; TURNBAUGH, P. J.; FIERER, N.; KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 108, p. 4516-4522, 2011.

CASTELLANOS, T.; DOHRMANN, A. B.; IMFELD, G.; BAUMGARTE, S.; TEBBE, C. C. Search of environmental descriptors to explain the variability of the bacterial diversity from maize rhizospheres across a regional scale. **European Journal of Soil Biology**, New Jersey, v. 45, p. 383-393, 2009.

CAVAGLIERI, L.; ORLANDO, J.; ETCHEVERRY, M. Rhizosphere microbial community structure at different maize plant growth stages and root locations. **Microbiological Research**, Jena, v. 164, p. 391-399, 2009.

CHAUHAN, P. S.; CHAUDHRY, V.; MISHRA, S.; NAUTIYAL, C. S. Uncultured bacterial diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) rhizosphere. **Journal of Basic Microbiology**, Weinheim, v. 51, p. 15-32, 2011.

CHEN, J.; BITTINGER, K.; CHARLSON, E. S.; HOFFMANN, C.; LEWIS, J.; WU, G. D.; COLLMAN, R. G.; BUSHMAN, F. D.; LI, H. Z. Associating microbiome composition with environmental covariates using generalized UniFrac distances. **Bioinformatics**, v. 28, p. 2106-2113, 2012.

FAGERIA, N. K. **The use of nutrients in crop plants**. Boca Raton: CRC Press, 2009.

FIERER, N.; BRADFORD, M. A.; JACKSON, R. B. Toward an ecological classification of soil bacteria. **Ecology**, Tempe, v. 88, p. 1354-1364, 2007.

GARCIA-SALAMANCA, A.; MOLINA-HENARES, M. A.; VAN DILLEWIJN, P.; SOLANO, J.; PIZARRO-TOBIAS, P.; ROCA, A.; DUQUE, E.; RAMOS, J. L. Bacterial diversity in the rhizosphere of maize and the surrounding carbonate-rich bulk soil. **Microbial Biotechnology**, v. 6, p. 36-44, 2013.

GOMES, N. C. M.; FAGBOLA, O.; COSTA, R.; RUMJANEK, N. G.; BUCHNER, A.; MENDONA-HAGLER, L.; SMALLA, K. Dynamics of fungal communities in bulk and maize rhizosphere soil in the tropics. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 3758-3766, 2003.

GOTTEL, N. R.; CASTRO, H. F.; KERLEY, M.; YANG, Z. M.; PELLETIER, D. A.; PODAR, M.; KARPINETS, T.; UBERBACHER, E.; TUSKAN, G. A.; VILGALYS, R.; DOKTYCZ, M. J.; SCHADT, C. W. Distinct microbial communities within the endosphere and rhizosphere of *Populus deltoides* roots across contrasting soil types. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, p. 5934-5944, 2011.

JANGID, K.; WILLIAMS, M. A.; FRANZLUEBBERS, A. J.; SANDERLIN, J. S.; REEVES, J. H.; JENKINS, M. B.; ENDALE, D. M.; COLEMAN, D. C.; WHITMAN, W. B. Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, p. 2843-2853, 2008.

LI, X. Z.; RUI, J. P.; MAO, Y. J.; YANNARELL, A.; MACKIE, R. Dynamics of the bacterial community structure in the rhizosphere of a maize cultivar. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 68, p. 392-401, 2014.

LYNCH, J. P. Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 156, p. 1041-1049, 2011.

MANDER, C.; WAKELIN, S.; YOUNG, S.; CONDRON, L.; O'CALLAGHAN, M. Incidence and diversity of phosphate-solubilising bacteria are linked to phosphorus status in grassland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 44, p. 93-101, 2012.

MCINROY, J. A.; KLOEPPER, J. W. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. **Plant and Soil**, The Hague, v. 173, p. 337-342, 1995.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399 p.

OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARAES, C. T.; SCHAFFERT,

R. E.; SA, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 41, p. 1782-1787, 2009.

PARENTONI, S. N.; SOUZA JÚNIOR, C. L. Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, p. 893-901, 2008.

PARENTONI, S. N.; SOUZA JUNIOR, C. L. de; ALVES, V. M. C.; GAMA, E. E. G. e; COELHO, A. M.; OLIVEIRA, A. C. de; GUIMARAES, P. E. de O.; GUIMARAES, C. T.; VASCONCELOS, M. J. V. de; PACHECO, C. A. P.; MEIRELLES, W. F.; MAGALHAES, J. V. de; GUIMARAES, L. J. M.; SILVA, A. R. da; MENDES, F. F.; SCHAFFERT, R. E. Inheritance and breeding strategies for phosphorus efficiency in tropical maize (*Zea mays* L.). **Maydica**, Bergamo, v. 55, n. 1, p. 1-15, 2010.

PEIFFER, J. A.; SPOR, A.; KOREN, O.; JIN, Z.; TRINGE, S. G.; DANGL, J. L.; BUCKLER, E. S.; LEY, R. E. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.110, p. 6548-6553, 2013.

PEREIRA, P.; IBÁÑEZ, F.; ROSENBLUETH, M.; ETCHEVERRY, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Analysis of the bacterial diversity associated with the roots of maize (*Zea mays* L.) through culture-dependent and culture-independent methods. **ISRN Ecology**, v. 2011, p. 1-10, 2011.

PICARD, C.; BOSCO, M. Maize heterosis affects the structure and dynamics of indigenous rhizospheric auxins-producing *Pseudomonas* populations. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 53, p. 349-357, 2005.

RAGHOTHAMA, K. G.; KARTHIKEYAN, A. S. Phosphate acquisition. **Plant and Soil**, The Hague, v. 274, p. 37-49, 2005.

REIS, V. M.; ESTRADA-DE LOS SANTOS, P.; TENORIO-SALGADO, S.; VOGEL, J.; STOFFELS, M.; GUYON, S.; MAVINGUI, P.; BALDANI, V. L. D.; SCHMID, M.; BALDANI, J. I.; BALANDREAU, J.; HARTMANN, A.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, 2155-2162, 2004.

RIJAVEC, T.; LAPANJE, A.; DERMASTIA, M.; RUPNIK, M. Isolation of bacterial endophytes from germinated maize kernels. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 53, p. 802-808, 2007.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, p. 587, 2013.

SINGH, B. K.; MUNRO, S.; POTTS, J. M.; MILLARD, P. Influence of grass species and soil type on rhizosphere microbial community structure in grassland soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 36, p. 147-155, 2007.

SOUSA, S. M. de; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; OLIVEIRA, A. C. de; VASCONCELOS, M. J. V. de; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARAES, C. T.; MAGALHAES, J. V. A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 39, n. 11, p. 925-935, 2012.

SUAREZ-MORENO, Z. R.; CABALLERO-MELLADO, J.; COUTINHO, B. G.; MENDONCA-PREVIATO, L.; JAMES, E. K.; VENTURI, V. Common features of environmental and potentially beneficial plant-associated *Burkholderia*. **Microbial Ecology**, New York, v. 63, p. 249-266, 2012.

TANG, X.; PLACELLA, S. A.; DAYDÉ, F.; BERNARD, L.; ROBIN, A.; JOURNET, E.-P.; JUSTES, E.; HINSINGER, P. Phosphorus availability and microbial community in the rhizosphere of intercropped cereal and legume along a P-fertilizer gradient. **Plant and Soil**, The Hague, v. 407, n. 1, p. 119-134, 2016.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINÉ, B.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYE, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-9, 2013.

WANG, Y.; JI, H.; GAO, C. Differential responses of soil bacterial taxa to long-term P, N, and organic manure application. **Journal of Soils and Sediments**, v. 16, n. 3, p. 1046-1058, 2016.

WAKELIN, S.; MANDER, C.; GERARD, E.; JANSÁ, J.; ERB, A.; YOUNG, S.; CONDRON, L.; O'CALLAGHAN, M. Response of soil microbial communities to contrasted histories of phosphorus fertilisation in pastures. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 61, p. 40-48, 2012.

