

UNIVERSIDADE VILA VELHA – ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**PROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE
CRESCIMENTO VEGETAL PROVENIENTES DO SOLO DE
RESTINGA COM POTENCIAL PARA USO DE AGRICULTURA**

CLARISSE MAXIMO ARPINI-COSTA

VILA VELHA-ES
JULHO / 2023

UNIVERSIDADE VILA VELHA – ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**PROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE
CRESCIMENTO VEGETAL PROVENIENTES DO SOLO DE
RESTINGA COM POTENCIAL PARA USO DE AGRICULTURA**

Tese apresentada a Universidade
Vila Velha, como pré-requisito do
Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia Vegetal, para a
obtenção de título de Doutora em
Biotecnologia Vegetal.

CLARISSE MAXIMO ARPINI-COSTA

VILA VELHA-ES
JULHO / 2023

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

A772p

Arpini-Costa, Clarisse Maximo.

Prospecção de microrganismos promotores de crescimento vegetal provenientes do solo de Restinga com potencial para uso de agricultura / Clarisse Maximo Arpini-Costa- 2023.
128 f.: il.

Orientador: Alessandro Coutinho Ramos

Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Vila Velha, 2023.

Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia Vegetal. 2. Plantas - Efeito do nitrogênio.
3. Fosfato. 4. Solubilização. I. Ramos, Alessandro Coutinho.
II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 660.6

CLARISSE MAXIMO ARPINI-COSTA

**PROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE
CRESCIMENTO VEGETAL PROVENIENTES DO SOLO DE
RESTINGA COM POTENCIAL PARA USO DE AGRICULTURA**

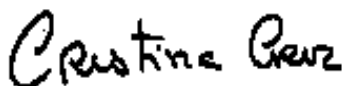
Tese apresentada a Universidade
Vila Velha, como pré-requisito do
Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia Vegetal, para a
obtenção de título de Doutor (a) em
Biotecnologia Vegetal

Aprovada em 28 de Julho de 2023,

Banca Examinadora:



Dra. Amanda Azevedo Bertolazi (UVV)



Dra. Cristina Cruz (ULisboa)



Dr. Frederico Jacob Eutrópio (FAESA)



Dr. Alessandro Coutinho Ramos (UVV)
Orientador

Dedicatória

“Filha, a única coisa que não podem tirar de você é o conhecimento”

José Cleomar Arpini

Acho que só ouvi papai dizer essa frase uma vez, mas ela ressoa nos meus pensamentos até hoje. Não é fácil começar uma nova jornada e em um terreno tão novo. Não foi fácil mesmo! Mas valeu cada momento! Dedico essa conquista ao meu pai, José Cleomar Arpini, que, onde quer que esteja, ainda é meu grande incentivador. Nunca me deixou desistir de absolutamente nada. Obrigada por quem sou hoje. Te amo pra sempre!

Agradecimento

Agradeço a Deus, por cada momento desses quatro anos, bons e ruins.

À minha família que me amparou e incentivou: Minha mãe, Maria da Penha, e irmãs, Carolina e Bartira. Não tenho palavras para agradecer. Amo vocês! Meu marido, Elton, que mesmo com todas as dificuldades, pois não foi um período fácil, esteve ao meu lado e nunca me desamparou e à nossa filha, Cecília, que nasceu e me salvou de mim. Amo muito vocês!!!!

Ao meu orientador, Dr. Alessandro Coutinho Ramos. Lembro como se fosse ontem o dia que sentei com você e te contei que estava tentando engravidar e você me apoiou. Obrigada por ter acreditado e confiado em mim. Serei eternamente grata pelo que você me proporcionou.

Ao meu grande amigo e irmão, João Damasceno, que compra todas as minhas loucuras e sempre chega junto! Ao meu braço direito aqui no laboratório, Luciano Trarbach por ter me ajudado tanto e segurando as pontas, obrigada!

À toda equipe do LMab, obrigada! Ao Dr. Sávio Bastos que me orientou demais, quando eu estava engatinhando ainda nas técnicas novas. À Dra. Amanda Bertolazi que, mesmo não estando tão próxima ao meu projeto, buscou sempre me auxiliar quando eu a procurava. Ao Dr. Frederico Eutrópio pela prontidão em me auxiliar. Ao Dr. Romildo Azevedo, sempre tão solícito e disponível! À Dra. Tamires Cruz por sua simplicidade, paciência e calma.

Agradeço também ao Flávio Alves e a Alana Ramos. Dizem que não aprendemos com IC's, que são os IC's que aprendem conosco. Discordo, pois todos estamos sempre em processo de aprendizagem e aprendi muito com vocês. Obrigada!

Agradeço ao Dr. Frabécio Motteran pelo suporte, conhecimento e tempo dedicado a me ajudar.

Agradeço à Dra. Adriana Dantas que me permitiu participar do PPGBV. Também tenho gratidão eterna!

E por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, torceram por mim!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE QUADROS	VIII
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	X
Resumo	01
Abstract	02
Introdução geral	03
Justificativa	05
Objetivos	08
Referências bibliográficas	09
Capítulo 1 - Promoção do Crescimento vegetal: aspectos biológicos e fisiológicos	14
1. Introdução	14
2. Fatores abióticos	15
3. Fatores bióticos	17
4. Interação microrganismo-planta	19
5. Mecanismos de promoção de crescimento vegetal	24
5.1. Fixação de nitrogênio	25
5.2. Solubilização de fósforo	26
5.3. Produção de fitohormônios	27
5.4. Produção microbiana de compostos orgânicos voláteis	31
5.5. Produção de sideróforos	32
6. Biofertilizantes	34
7. Conclusão	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
Capítulo 2 - Prospecção de bactérias com potencial para a promoção de crescimento em plantas provenientes de solo de Restinga	49
1. Introdução	49
2. Materiais e métodos	52
2.1 Área de estudo e amostragem	52
2.2 Análises Químicas e nutricionais	54
2.3 Análises estatísticas	54
2.4 Solubilização de fosfato de cálcio	55
2.4.1 Medição dos halos provenientes da solubilização de fosfato de cálcio	56
2.5 Avaliação quantitativa da solubilização de fosfato de cálcio	56
2.6 Solubilização e tolerância ao zinco	57
2.7 Solubilização de fosfato de rocha	57
2.8 Assimilação de nitrogênio	58
2.9 Produção de ácido indol-acético (AIA)	59
2.10 Caracterização bioquímica e coloração de Gram	61
2.11 Sensibilidade a antimicrobianos	61
2.12 Tolerância aos estresses abióticos	61
2.13 Compatibilidade entre as cepas prospectadas e com outros microrganismos promotores de crescimento vegetal	62
2.14 Capacidade de inibição de fungos fitopatógenos	64
2.15 Tolerância à presença de glifosato	65

2.16	Inoculação in vitro em sementes de tomate variação Santa Clara (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	65
2.17	Teste de cepas por sua capacidade de aumentar a tolerância ao estresse salino de tomate variação Santa Clara (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	66
3.	Resultados e Discussão	67
3.1	Análises Químicas e de macro e micronutrientes	67
3.2	Quantificação de bactérias totais e fungos	76
3.3	Quantificação de bactérias solubilizadoras de fosfato e fixadoras de nitrogênio	78
3.4	Avaliações qualitativa e quantitativa da capacidade de solubilizar fosfato de cálcio	80
3.5	Solubilização e tolerância ao zinco	82
3.6	Solubilização de fosfato de rocha	84
3.7	Assimilação de nitrogênio	86
3.8	Produção de ácido indol-acético (AIA)	88
3.9	Caracterização bioquímica e coloração de Gram	89
3.10	Sensibilidade a antimicrobianos	91
3.11	Tolerância à salinidade, variações de temperatura, pH e atmosfera	93
3.12	Compatibilidade entre as cepas prospectadas e com outros microrganismos promotores de crescimento vegetal	96
3.13	Capacidade de inibição de fungos fitopatógenos	98
3.14	Tolerância à presença de glifosato	103
3.15	Inoculação in vitro em sementes de tomate variação Santa Clara (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	105
3.16	Teste de cepas por sua capacidade de aumentar a tolerância ao estresse salino de tomate variação Santa Clara (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	110
4.	Conclusão	112
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1 Promoção do Crescimento vegetal: aspectos biológicos e fisiológicos

Figura 1	Visão geral das interações microrganismo-planta em regiões de filosfera e rizosfera	19
Figura 2	Regulação da Via TIR1/AFB	28
Figura 3	Modelo de regulação da proteína DELLA em resposta à giberelina (GA)	30

Capítulo 2 - Prospecção de bactérias com potencial para a promoção de crescimento em plantas provenientes de solo de Restinga

Figura 1	Foto aérea parcial do PEPCV	53
Figura 2	Foto da região conservada e da da região degradada do PEPCV	53
Figura 3	Gráfico de teores de Ácido húmico no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV)	69
Figura 4	Gráficos de correlação por análise de regressão de Pearson entre valores de carbono e grau de humificação (A) e entre os a relação C/N e o grau de humificação (B)	70
Figura 5	Gráfico de teores de Nitrogênio total no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV)	70
Figura 6	Gráfico de teores de Potássio no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV)	71
Figura 7	Gráficos de correlação por análise de regressão de Pearson entre valores de potássio e CTC efetiva (A) e entre valores de potássio e CTC em pH 7 (B)	72
Figura 8	Gráfico de teores de Sódio no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV)	73
Figura 9	Gráfico de Saturação de Alumínio no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV)	74
Figura 10	Gráfico de valores de Fósforo Mehlich no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV)	76

Figura 11	Densidade de bactérias totais por grama de solo (A) e densidade de fungos totais por grama de solo (B), em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV)	77
Figura 12	Densidade de bactérias solubilizadoras de fosfato (A) e densidade de bactérias fixadoras de nitrogênio por grama de solo (B), em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV)	79
Figura 13	Placas de agar NBrip com culturas de diferentes cepas bacterianas, mostrando a formação de halos de solubilização de fosfato de diferentes diâmetros	80
Figura 14	Gráfico de correlação entre valores encontrados de diâmetro formados devido à solubilização de fósforo em meio sólido (teste qualitativo) e valores encontrados de fósforo solubilizados em meio líquido (teste quantitativo)	82
Figura 15	Placas contendo agar NBrip acrescido de diferentes concentrações de ZnO e com cultivo de bactérias solubilizadoras de zinco (formação de halos ao redor da colônia)	84
Figura 16	Tubos contendo Caldo NBrip, acrescidos de de Solução de Azul de Bromotimol	85
Figura 17	Teste de assimilação de nitrogênio atmosférico	86
Figura 18	Análise de dendrograma gerada a partir do cruzamento dos resultados obtidos com os testes de capacidade	87
Figura 19	Testes de disco-difusão em ágar demonstrando perfis variados de sensibilidade das nossas cepas aos antibióticos testados	91
Figura 20	Gráfico de curva de tolerância à salinidade das cepas bacterianas que se apresentaram com melhor desempenho ...	94
Figura 21	Gráfico de curva de tolerância à variação de temperatura das cepas bacterianas que se apresentaram com melhor desempenho	95
Figura 22	Gráfico de curva de tolerância à variação de pH das cepas bacterianas que se apresentaram com melhor desempenho ...	96
Figura 23	Fotos das placas de teste de compatibilidade entre as cepas bacterianas prospectadas e bactéria <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	97
Figura 24	Fotos das placas de teste de compatibilidade entre as cepas bacterianas prospectadas e o fungo <i>Serendipita indica</i>	97

Figura 25	Fotos das placas de teste de compatibilidade entre as cepas bacterianas prospectadas e o fungo <i>Trichoderma sp</i>	98
Figura 26	Placas de teste de inibição	100
Figura 27	Gráfico da curva de tolerância ao Glifosato	103
Figura 28	Gráfico de correlação por análise de regressão de Pearson entre tolerância de glifosato e o perfil de resistência apresentado pelas nossas cepas	104
Figura 29	Gráfico de comparação entre diferentes parâmetros das plântulas de tomate frente a presença das cepas bacterianas testadas	107
Figura 30	Fotos das placas com cultivo de tomates, após 15 dias de cultivo, sob diferentes tratamentos	108
Figura 31	Gráfico de comparação entre diferentes parâmetros das plântulas de tomate frente a presença de cepas bacterianas IC3Ds, ao fungo <i>S.indica</i> e à associação de ambos	109
Figura 32	Fotos das placas com cultivo de tomates, após 15 dias de cultivo, sob diferentes tratamentos	109
Figura 33	Gráfico de comparação entre diferentes parâmetros das plântulas de tomate cultivadas sob estresse salino	111
Figura 34	Gráfico de comparação entre diferentes parâmetros das plântulas de tomate cultivadas sob estresse salino	111

LISTA DE QUADROS

Capítulo 1 - Promoção do Crescimento vegetal: aspectos biológicos e fisiológicos

Quadro 1	Mecanismo de promoção de crescimento vegetal mediado por fungos em diferentes plantas cultivadas	21
Quadro 2	Mecanismo de promoção de crescimento vegetal mediado por bactérias em diferentes plantas cultivadas	23
Quadro 3	Relação de alguns biofertilizantes disponíveis no mercado	35
Quadro 4	Formulação de biofertilizantes e seus efeitos de acordo com os cultivares	37

Capítulo 2 - Prospecção de bactérias com potencial para a promoção de crescimento em plantas provenientes de solo de Restinga

Quadro 1	Relação de bactérias com capacidade de solubilizar ZnO, expostas a concentrações crescentes do metal.	83
Quadro 2	Relação de bactérias com os locais onde foram coletadas	87
Quadro 3	Características bioquímicas dos isolados bacterianos	90
Quadro 4	Resultados gerais dos testes realizados em cada cepa bacteriana isolada	106

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2 - Prospeção de bactérias com potencial para a promoção de crescimento em plantas provenientes de solo de Restinga

Tabela 1	Composição do Agar NBRIP utilizado para teste de capacidade de solubilização de Fosfato de Cálcio	55
Tabela 2	Reagentes utilizados para a quantificação de fosfato solúvel	57
Tabela 3	Composição do semi-sólido NFb para teste de assimilação de Nitrogênio	58
Tabela 4	Composição do Reagente de Salkowski para teste de produção de AIA	60
Tabela 5	Composição do caldo DYGS	60
Tabela 6	Composição da solução estoque de Triptofano	60
Tabela 7	Composição da solução de Ácido Indol Acético para preparo da curva de calibração	60
Tabela 8	Meio Kaefer modificado utilizado para cultivo do fungo <i>Serendipita indica</i>	63
Tabela 9	Dados das análises bioquímicas e nutricionais das amostras de solo coletadas	68
Tabela 10	Quantificação de fósforo solubilizados por cada uma das cepas testadas, após seleção de acordo com cálculo do diâmetro do halo formado no teste qualitativo	81
Tabela 11	Quantificação de produção de ácido indol-acético por cada uma das cepas testadas, após seleção de acordo com o índice de Bray-Curtis	88
Tabela 12	Medidas dos halos (mm) encontrados no teste de disco-difusão em ágar	92
Tabela 13	Quadro com valores de Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), valores dos índices de velocidade de crescimento micelial (IVC) e porcentagem de redução do índice de velocidade de crescimento micelial (PrIVM) de cada fitopatógeno frente a cada uma das cepas	102

LISTA DE ABREVIATURAS

$\frac{1}{2}$ MS - Murashige e Skoog Basal (meia força)

a.C. - antes de Cristo

ACC - Aminociclopropano-1-carboxílico ácido

ACCD -- 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase

acilHSL - Acil-homoserina Lactona

AIA - Ácido Indol-3-acético (AIA)

Al - Alumínio

AlPO - Fosfato de alumínio

Ca - Cálcio

Ca₃(PO₄)₂ - Fosfato de cálcio

Cd - Cádmi

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

CO₂ - Dióxido de carbono

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente

CTC - Capacidade de Troca Catiônica

Cu - Cobre

d.C. - depois de Cristo

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DYGS - Dextrose Yeast Glucose Sucrose

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPSPS - 5- enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase

Fe - Ferro

FePO - Fosfato ferroso

FPCP - Fungos promotores de crescimento de plantas

ha - Hectare

Hg - Mercúrio

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change

IVM - Índice de velocidade do crescimento micelial

K - Potássio (K)

Mg - Magnésio

Mn - Manganês

NaCl - Cloreto de Sódio

NBRIP - National Botanical Research Institute's phosphate

NFb - Nitrogen Free biotin-based

NMP - Número Mais Provável

O₂ - Oxigênio

ONPG - Orto-nitrofenil-β-galactosídeo

ONU - Organização das Nações Unidas

P - Fósforo

Pb - Chumbo

PEPCV - Parque Estadual Paulo Cesar Vinha

PIC - Porcentagem de inibição do crescimento micelial

PST - Porcentagem de Sódio Trocável

PVC - Policloreto de vinil

RAS - Relação de Adsorção de Sódio

ROS - Espécies Reativas de Oxigênio

Rpm - Rotações por minuto

RRs - Reguladores de Resposta (RRs)

UFC - Unidades Formadoras de Colônias

UNFCCC - United Nations Framework Convention on Climate Change

UVV - Universidade Vila Velha

Zn - Zinco

ZnCO₃ - Carbonato de zinco

ZnO - Óxido de zinco

ZnSO₄ - Sulfato de zinco

RESUMO

ARPINI-COSTA, CLARISSE MAXIMO, DSc, Universidade Vila Velha – ES, julho de 2023. **Prospecção de microrganismos promotores de crescimento vegetal provenientes do solo de restinga com potencial para uso de agricultura.** Orientador: Alessandro Coutinho Ramos.

As alterações climáticas tem ser tornado cada vez mais intensas, causando diversos impactos negativos ao planeta. Por este motivo, as atividades agrícolas têm encontrado desafios diários para manter e aumentar sua produção, uma vez que fatores abióticos, como aumentos da temperatura e processos de desertificação tem sido responsáveis por perdas nas colheitas. Neste contexto, biomas de restinga representam um ambiente naturalmente caracterizado por uma alta pressão de seleção nos organismos residentes, devido à alta insolação, solo arenoso, salino e com baixo teor de nutrientes, podendo ser um ambiente favorável à presença de microrganismos resilientes capazes de promover o crescimento vegetal, com a finalidade de aplicação em culturas de interesse econômico. Portanto, o objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar microrganismos com potencial biotecnológico em duas áreas de restinga (degradada e conservada) em solos com e sem cobertura vegetal. Os microrganismos foram isolados pelo método de diluição seriada e testados quanto a sua capacidade de fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato de cálcio, zinco e fosfato de rocha, produção de ácido indol acético, tolerância a estresses abióticos, à altas concentrações de zinco e à presença de glifosato e inibição de fitopatógenos. Também foi realizada a caracterização morfológica, bioquímica e o perfil de sensibilidade dos microrganismos; assim como testes de compatibilidade e teste *in vitro* com plântulas de tomates em condições normais de crescimento e sob estresse salino. O solo coletado foi analisado quanto à composição química e de macro e micronutrientes. Foi encontrada uma maior densidade de bactérias totais na área conservada de região fechada ($5,82 \text{ Log UFC g}^{-1}$) e uma diferença de 79,75 % entre os pontos com e sem cobertura vegetal. A distribuição de fungos totais ocorreu de forma oposta à distribuição de bactérias totais, com a maior densidade observada na área degradada de região fechada ($1,23 \text{ Log UFC g}^{-1}$). Foram selecionadas 16 cepas com melhor desempenho nos testes de caracterização, para serem avaliadas quanto à sua capacidade de promoção de crescimento vegetal. Destas foram selecionadas 4 cepas (IC3As, IC3Ds, RC1DsII e RD1IsII) que apresentaram os melhores resultados nos testes de caracterização para os testes *in vitro* com tomate. A cepa que apresentou os melhores resultados foi a cepa RD1IsII, proveniente da região degradada de restinga e sem cobertura vegetal.

Palavras-chave: solubilização, fosfato, zinco, fixação de nitrogênio, antropização.

ABSTRACT

ARPINI-COSTA, CLARISSE MAXIMO, DSc, Universidade Vila Velha – ES, July de 2023.
Prospecting for microorganisms that promote plant growth from restinga soil with potential for agricultural use. Advisor: Alessandro Coutinho Ramos.

Climate change has become more intense and directly impacting the planet. For this reason, agricultural activities have encountered daily challenges to maintain and increase production. Abiotic factors such as temperature increases and desertification processes have been responsible for crop losses. In this context, restinga biomes represent an environment naturally characterized by high selection pressure on resident organisms, high insolation, sandy soil, saline and low nutrient content, and may be providers of resilient microorganisms capable of promoting plant growth, can be applied in crops of economic interest. Therefore, the objective of this work was to isolate and characterize microorganisms with biotechnological potential in two restinga areas (degraded and conserved) in soils with and without vegetation cover. The microorganisms were isolated by the serial dilution method and tested for their nitrogen fixation capacity, calcium and zinc phosphate solubilization capacity, as well as tolerance to increased zinc concentrations, rock phosphate solubilization, acid production acetic indole, tolerance to abiotic stresses, inhibition of phytopathogens and tolerance to the presence of glyphosate, as well as its morphological and biochemical characterization and sensitivity profile. Compatibility tests and in vitro tests were also carried out with tomatoes under normal growth conditions and under saline stress. The soil was also analyzed for chemical composition and macro and micronutrients. A higher density of total bacteria was found in the conserved area of the closed region (5.82 Log CFU g⁻¹) a difference of 79.75% between the points ocm and without vegetation cover. The distribution of total fungi occurred opposite to the distribution of total bacteria with the highest density observed in the degraded area of the closed region (1.23 Log CFU g⁻¹). There were selected sixteen strains with the best performance in the tests for characterizing the ability to promote plant growth and with varied biochemical profiles. Of these, 4 strains were selected (IC3As, IC3Ds, RC1DsII and RD1IsII) that presented the best results in the characterization tests for the in vitrotests with tomato. The strain that presented the best results was the RD1IsII strain, from the restinga degraded region and without vegetation cover.

Keywords: solubilization, phosphate, zinc, nitrogen fixation, anthropization.

INTRODUÇÃO GERAL

A história da humanidade se desenvolve em torno das evoluções nos métodos de conquista de alimentos como as práticas agrícolas e a domesticação dos animais, que permitiram a criação de comunidades fixas, o que trouxe um novo desafio: produzir sem impactar (Tudi *et al.*, 2021; Morell-Hart, Dussol, e Fedick, 2022). A velocidade de crescimento populacional vem se tornando um desafio cada vez maior, devido à necessidade de produzir alimentos em uma velocidade proporcional ao crescimento populacional, e em um ambiente cada vez mais antropizado (Fróna, Szenderák e Harangi-Rákos, 2019; Molotoks, Smith e Dawson, 2021).

As mudanças climáticas, que vem afetando principalmente as regiões consideradas menos desenvolvidas, como os processos de desertificação, salinização do solo, aumentos bruscos de temperatura e chuvas ácidas representam uma grande ameaça juntamente com o uso inadequado de recursos naturais e os problemas associados à urbanização, como contaminação por resíduos industriais e residenciais (Fróna, Szenderák e Harangi-Rákos, 2019; Fróna, Szenderák e Harangi-Rákos, 2021; Molotoks, Smith e Dawson, 2021).

Nesse contexto temos as regiões litorâneas que, além de serem naturalmente um ambiente de alta pressão de seleção (altas temperaturas, influência marinha, solo arenoso e salino e alta insolação), sofrem com o crescimento urbano tanto com a construção de residências e hotéis quanto com a extração de areias que são utilizadas na construção civil e em outras indústrias (Zhai *et al.*, 2020; Zheng *et al.*, 2020; Zakavi, Askari and Shahrooei, 2022). As restingas são biomas que vêm sendo constantemente impactados por estas ações, tendo sofrido reduções importantes nas suas áreas o que representa um desafio diário no processo de adaptação dos macroorganismos residentes (flora e fauna) o que pode influenciar diretamente no perfil de microrganismos residentes, incluindo os promotores de crescimento vegetal (Esser, Neves and Jarenkow, 2019; Sorin *et al.*, 2019; Pinto *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2020).

Portanto a hipótese deste trabalho é que em ambientes de restinga (naturalmente hostis) podemos encontrar microrganismos promotores de crescimento vegetal melhor adaptados aos fatores abióticos que impactam uma plantação, assim como, em ambientes que sofrem por ações antrópicas (região de restinga degradada) podemos encontrar microrganismos com uma maior adaptação à essa pressão de seleção que podem também ser utilizados para mitigar os impactos abióticos. Com

base nesta hipótese o objetivo deste trabalho é realizar a prospecção de microrganismos promotores de crescimento vegetal capazes de se desenvolverem em ambientes hostis, como em solos cultivados e ou contaminados, provenientes tanto de uma região conservada e de uma região degradada por ações antrópicas (extração ilegal de areia) e testá-los para a produção de bioinoculantes.

JUSTIFICATIVA

Em 1992, durante a Cúpula da Terra no Rio de Janeiro, foi criada a UNFCCC – Convenção Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima, e, desde então são discutidas medidas para minimizar os impactos que as mudanças climáticas possam causar sobre o planeta (Saath e Fachinello, 2018). Mudanças climáticas ocorrem periodicamente, porém as influências provocadas pelo crescimento e desenvolvimento populacional têm causado profundos impactos (Shahzad *et al.*, 2021; Abbass *et al.*, 2022). A projeção é de que até o ano de 2050 a humanidade alcance 9,7 bilhões de pessoas (ONU, 2020). Só no ano de 2020, foi calculado que, aproximadamente, 811 milhões de pessoas no mundo não tiveram acesso a quantidade de alimento suficiente para uma vida saudável (ONU, 2020).

As alterações climáticas, como as mudanças dos padrões de chuvas, aumento dos extremos de temperatura, processos de desertificação e inundações interferem diretamente na produção de alimentos (Hussain *et al.*, 2019; Shahzad *et al.*, 2021). O aumento nas temperaturas pode causar estresse térmico, diminuindo a produtividade nas colheitas e prejudicando áreas de pastagens, assim como o aumento da ocorrência de pragas (Hussain *et al.*, 2019; Harvey *et al.*, 2020). Os padrões de chuva alterados podem levar à escassez de água, prejudicando a irrigação das lavouras (Hussain *et al.*, 2019). Para evitar o estresse hídrico, muitas vezes, são realizadas técnicas que podem acelerar os processos de salinização do solo e desertificação (Okur and Örcen, 2020; Haj-Amor *et al.*, 2022). Todos esses fatores, sozinhos ou associados, podem provocar prejuízos incalculáveis sobre a produção de alimentos (Malhi, Kaur e Kaushik, 2021; Haj-Amor *et al.*, 2022).

A produção de alimentos não tem acompanhado a velocidade de crescimento populacional e (Pawlak e Kołodziejczak, 2020) com a expansão das cidades, as áreas de cultivo têm sido reduzidas, o que desperta a ocupação ilegal de áreas de preservação e, muitas vezes, a aplicação de técnicas de queimadas e derrubada de árvores, refletindo mais uma vez nas mudanças climáticas (McDonald *et al.*, 2020; Zhuo e Salleh, 2021). A escassez de áreas de cultivo, aumentam o seu valor para aquisição impactando no perfil das produções, que podem deixar de ser familiares (e aumentarem o êxodo rural e a pressão nos centros urbanos) e se tornarem industriais (Rosa *et al.*, 2020; Corwin, 2021). A expansão urbana desenfreada provoca aumentos de população com menor acesso a infraestrutura, saúde e alimentação (Zhuo e Salleh,

2021; Parmesan, Morecroft e Trisurat, 2022) e a falta de planejamento (urbano e industrial) e de acesso a condições saneamento básico, contribui para o aumento das doenças e poluições ambientais (Parmesan, Morecroft e Trisurat, 2022).

O êxodo rural e o crescimento urbano provocam alterações ambientais também em outras áreas. A especulação imobiliária das áreas litorâneas, seja para moradia ou hotelaria e lazer, trazem impactos profundo nestes biomas, como a retirada da vegetação para a construção e a retirada de recursos para uso na construção civil e industrial (Karani e Failler, 2020; McDonald *et al.*, 2020; Leal Filho *et al.*, 2021).

Neste contexto, práticas mais sustentáveis têm sido adotadas com o intuito de mitigar os impactos das mudanças climáticas sobre a produção de alimentos (Malhi, Kaur e Kaushik, 2021). O uso consciente de defensivos agrícolas ainda está muito além do ideal, porém o desenvolvimento de produtos que podem diminuir o uso destes ou até substituí-los tem aumentado nos últimos anos (Samada e Tambunan, 2020; Deguine *et al.*, 2021; Elnahal *et al.*, 2022).

Microrganismos (bactérias, fungos e cianobactérias) têm desempenhado um papel de grande importância na produção vegetal e biorremediação, pelo seu uso como via de promoção de nutrição (fósforo, nitrogênio, zinco, etc) de plantas, no controle de pragas e recuperação de áreas contaminadas por metais pesados (Atuchin *et al.*, 2023; Mumtaz *et al.*, 2023). Harman e Uphoff (2019) verificaram que o uso de rizobactérias, fungos micorrízicos arbusculares, e fungos como *Trichoderma* e *Serendipita indica* são capazes de diminuir os efeitos de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas plantas e aumentar o teor de carbono inorgânico no solo. Em outro estudo realizado com *Bacillus subtilis*, foi demonstrada sua capacidade de promover do crescimento de raízes e partes aéreas de tomates, assim como aumento da resistência fitopatógenos (Samaras *et al.*, 2021).

Um grande desafio este processo é encontrar microrganismos capazes de se estabelecer em áreas que, muitas vezes, apresentam desgastes por excesso de práticas agrícolas realizadas incorretamente ou em áreas consideradas não cultiváveis mas que apresentam potencial (Kour *et al.*, 2019; White, 2020; Coban, Deyn e van der Ploeg, 2022; Naorem *et al.*, 2023).

Microrganismos provenientes, naturalmente, de locais onde existem fortes pressões de seleção, seja por intempéries ou por ações antrópicas ou pelos dois fatores associados, podem se tornar peças-chave nesse processo (Mushtaq, 2021;

Naorem *et al.*, 2023). Dessa forma, microrganismos provenientes de solos de restinga, um bioma caracterizado por alta influência solar, solo salino, arenoso e com baixo teor de nutrientes, podem ser naturalmente adaptados a esses fatores abióticos e, seguindo o raciocínio, ambientes de restinga degradados por influência antrópica podem conter microrganismos adaptados e selecionados por mais estes fatores de pressão (Quintero, Castillo e Mejía, 2022; Guimaraes *et al.*, 2023; Schaefer *et al.*, 2023).

Em um levantamento realizado no PubMed, em um período de 40 anos, encontramos 216 artigos sobre restinga, dos quais, 16 abordam pesquisas sobre bactérias e/ou microbioma e 18 abordam pesquisas sobre fungos e/ou microbioma. Quando é incluída a palavra “solo” na busca, o número total de trabalhos diminui para 9. Na plataforma Scielo, em um período de 69 anos, utilizando os mesmos parâmetros de busca foram encontrados 553 artigos sobre restinga. Deste total, 61 artigos relacionados ao solo e 6 artigos envolvendo as palavras bactéria, fungo ou microbioma, demonstrando que existem ainda poucas pesquisas no campo da microbiologia com este bioma.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi prospectar microrganismos promotores de crescimento vegetal provenientes do solo de região de duas regiões de restinga, uma conservada e outra degradada por atividades antrópicas.

Objetivos Específicos

- Isolar e caracterizar microrganismos com potencial biotecnológico.
 - Testar os microrganismos selecionados para reconhecer a sua capacidade de resiliência aos fatores abióticos.
 - Realizar testes *in vitro* com os microrganismos selecionados em plantas de tomate sob condições normais de crescimento e sob condições de estresse salino para verificação da promoção de crescimento vegetal.

REFERÊNCIAS

- Abbass, K., Qasim, M. Z., Song, H., Murshed, M., Mahmood, H., & Younis, I. (2022). A review of the global climate change impacts, adaptation, and sustainable mitigation measures. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(28), 42539-42559.
- Coban, O., De Deyn, G. B., & van der Ploeg, M. (2022). Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science*, 375(6584), abe0725.
- Corwin, D. L. (2021). Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas. *European Journal of Soil Science*, 72(2), 842-862.
- Deguine, J. P., Aubertot, J. N., Flor, R. J., Lescourret, F., Wyckhuys, K. A., & Ratnadass, A. (2021). Integrated pest management: good intentions, hard realities. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 41(3), 38.
- Elnahal, A. S., El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Desoky, E. S. M., El-Tahan, A. M., Rady, M. M., & El-Tarabily, K. A. (2022). The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: A review. *European Journal of Plant Pathology*, 162(4), 759-792.
- Esser, L. F., Neves, D. M., & Jarenkow, J. A. (2019). Habitat-specific impacts of climate change in the Mata Atlântica biodiversity hotspot. *Diversity and Distributions*, 25(12), 1846-1856.
- Fróna, D., Szenderák, J., & Harangi-Rákos, M. (2019). The challenge of feeding the world. *Sustainability*, 11(20), 5816.
- Fróna, D., Szenderák, J., & Harangi-Rákos, M. (2021). Economic effects of climate change on global agricultural production. *Nature Conservation*, 44, 117.
- Guimaraes, P. H., Sobrinho, T. G., Cristiano, M. P., & Cardoso, D. C. (2023). Under the sun or stars: how a dune ant (Hymenoptera: Formicidae) community is shaped along the day and night. *Austral Entomology*, 62(2), 191-199.
- Haj-Amor, Z., Araya, T., Kim, D. G., Bouri, S., Lee, J., Ghiloufi, W., ... & Lal, R. (2022). Soil salinity and its associated effects on soil microorganisms, greenhouse gas emissions, crop yield, biodiversity and desertification: A review. *Science of the Total Environment*, 843, 156946.

- Harman, G. E., & Uphoff, N. (2019). Symbiotic root-endophytic soil microbes improve crop productivity and provide environmental benefits. *Scientifica*, 2019.
- Harvey, J. A., Heinen, R., Gols, R., & Thakur, M. P. (2020). Climate change-mediated temperature extremes and insects: From outbreaks to breakdowns. *Global change biology*, 26(12), 6685-6701.
- Hirt, H. (2020). Healthy soils for healthy plants for healthy humans: How beneficial microbes in the soil, food and gut are interconnected and how agriculture can contribute to human health. *EMBO reports*, 21(8), e51069.
- Hussain, S., Shaukat, M., Ashraf, M., Zhu, C., Jin, Q., & Zhang, J. (2019). Salinity stress in arid and semi-arid climates: Effects and management in field crops. *Climate change and agriculture*, 13, 201-226.
- Karani, P., & Failler, P. (2020). Comparative coastal and marine tourism, climate change, and the blue economy in African Large Marine Ecosystems. *Environmental Development*, 36, 100572.
- Kour, R., Jain, D., Bhojiya, A. A., Sukhwai, A., Sanadhya, S., Saheewala, H., & Mohanty, S. R. (2019). Zinc biosorption, biochemical and molecular characterization of plant growth-promoting zinc-tolerant bacteria. *3 Biotech*, 9, 1-17.
- Leal Filho, W., Hunt, J., Lingos, A., Platje, J., Vieira, L. W., Will, M., & Gavrilletea, M. D. (2021). The unsustainable use of sand: Reporting on a global problem. *Sustainability*, 13(6), 3356.
- Malhi, G. S., Kaur, M., & Kaushik, P. (2021). Impact of climate change on agriculture and its mitigation strategies: A review. *Sustainability*, 13(3), 1318.
- McDonald, R. I., Mansur, A. V., Ascensão, F., Colbert, M. L., Crossman, K., Elmqvist, T., ... & Ziter, C. (2020). Research gaps in knowledge of the impact of urban growth on biodiversity. *Nature Sustainability*, 3(1), 16-24.
- Molotoks, A., Smith, P., & Dawson, T. P. (2021). Impacts of land use, population, and climate change on global food security. *Food and Energy Security*, 10(1), e261.
- Morell-Hart, S., Dussol, L., & Fedick, S. L. (2022). Agriculture in the ancient Maya Lowlands (Part 1): Paleoethnobotanical residues and new perspectives on plant management. *Journal of Archaeological Research*, 1-55.

Mushtaq, Z. (2021). PGPR: present role, mechanism of action and future prospects along bottlenecks in commercialization. *EQA-International Journal of Environmental Quality*, 41, 9-15.

Naik, K., Mishra, S., Srichandan, H., Singh, P. K., & Sarangi, P. K. (2019). Plant growth promoting microbes: Potential link to sustainable agriculture and environment. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101326.

Naorem, A., Jayaraman, S., Dang, Y. P., Dalal, R. C., Sinha, N. K., Rao, C. S., & Patra, A. K. (2023). Soil constraints in an arid environment—challenges, prospects, and implications. *Agronomy*, 13(1), 220.

Okur, B., & Örcen, N. (2020). Soil salinization and climate change. In *Climate change and soil interactions* (pp. 331-350). Elsevier.

ONU - Organização das Nações Unidas. Global Issues - Food. 2022. Disponível em: < <https://www.un.org/en/global-issues/food> > Acesso em 15 de junho de 2023.

Parmesan, C., Morecroft, M. D., & Trisurat, Y. (2022). *Climate change 2022: Impacts, adaptation and vulnerability* (Doctoral dissertation, GIEC).

Pawlak, K., & Kołodziejczak, M. (2020). The role of agriculture in ensuring food security in developing countries: Considerations in the context of the problem of sustainable food production. *Sustainability*, 12(13), 5488.

Pinto, A. L., Canei, A. D., de Armas, R. D., da Silva, E. P., Hernandez, A. G., Giachini, A. J., & Soares, C. R. F. S. (2020). Structure of microbial soil communities in areas of restinga: a case study in a conservation unit in the Atlantic Forest of the Southern Brazilian coast. *Tropical Ecology*, 61, 594-600.

Quintero, I. J., Castillo, A. M., & Mejía, L. C. (2022). Diversity and taxonomy of soil bacterial communities in Urban and rural Mangrove Forests of the Panama Bay. *Microorganisms*, 10(11), 2191.

Refer introdução geral

Rosa, L., Chiarelli, D. D., Rulli, M. C., Dell'Angelo, J., & D'Odorico, P. (2020). Global agricultural economic water scarcity. *Science Advances*, 6(18), eaaz6031.

- Saath, K. C. D. O., & Fachinello, A. L. (2018). Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, 56, 195-212.
- Samada, L. H., & Tambunan, U. S. F. (2020). Biopesticides as promising alternatives to chemical pesticides: A review of their current and future status. *Online J. Biol. Sci*, 20(2), 66-76.
- Samaras, A., Roumeliotis, E., Ntasiou, P., & Karaoglanidis, G. (2021). *Bacillus subtilis* MBI600 promotes growth of tomato plants and induces systemic resistance contributing to the control of soilborne pathogens. *Plants*, 10(6), 1113.
- Schaefer, C. E., Filho, E. I. F., Francelino, M. R., Corrêa, G. R., de Oliveira, F. S., & Ker, J. C. (2023). The Soil Regions: A Framework for Stratifying the Brazilian Soils. In *The Soils of Brazil* (pp. 71-84). Cham: Springer International Publishing.
- Shahzad, A., Ullah, S., Dar, A. A., Sardar, M. F., Mehmood, T., Tufail, M. A., ... & Haris, M. (2021). Nexus on climate change: Agriculture and possible solution to cope future climate change stresses. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 14211-14232.
- Silva, C. D. O., Delgado, R. C., Teodoro, P. E., Junior, C. A. S., & Rodrigues, R. D. A. (2020). Spatially explicit modeling of land use and land cover in the State of Rio de Janeiro-Brazil. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 18, 100303.
- Sorin, M., Matei, G. M., Monica, D., & Mocanu, V. (2019). Differences in organic matter quality, chemical and microbiological characteristics of two Phaeozems under natural and anthropic influence. *The EuroBiotech Journal*, 3(4), 182-189.
- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., ... & Phung, D. T. (2021). Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International journal of environmental research and public health*, 18(3), 1112.
- White, C. (2020). Why regenerative agriculture?. *American Journal of Economics and Sociology*, 79(3), 799-812.
- Zakavi, M., Askari, H., & Shahrooei, M. (2022). Characterization of bacterial diversity between two coastal regions with heterogeneous soil texture. *Scientific Reports*, 12(1), 18901.

Zhai, T., Wang, J., Fang, Y., Qin, Y., Huang, L., & Chen, Y. (2020). Assessing ecological risks caused by human activities in rapid urbanization coastal areas: Towards an integrated approach to determining key areas of terrestrial-oceanic ecosystems preservation and restoration. *Science of the Total Environment*, 708, 135153.

Zheng, Z., Wu, Z., Chen, Y., Yang, Z., & Marinello, F. (2020). Exploration of eco-environment and urbanization changes in coastal zones: A case study in China over the past 20 years. *Ecological Indicators*, 119, 106847.

Zhuo, W. X., & Salleh, S. H. (2021). The impact of urbanization on food production and residential land disputes (A global perspective).

CAPÍTULO 1

Promoção do Crescimento Vegetal: Aspectos Biológicos e Fisiológicos

(Norma de citação de estruturação seguida de acordo com a revista “Bioresource Technology”, Elsevier)

1- Introdução

A história da humanidade está diretamente ligada à história da agricultura, uma vez que o desenvolvimento desta prática permitiu que o ser humano estabelecesse comunidades e aumentassem sua população. Há cerca de 10000 anos surgiram os primeiros indícios de práticas associadas à agricultura com coletas de sementes, técnicas de cultivo rudimentares e cultivos florestais (Tudi *et al.*, 2021). Segundo estudos de áreas de biomas antropogênicos, conhecidos como antromas, as primeiras mudanças ambientais começaram por volta de 8.000 a.C. com a criação de pastagens seguida da criação de áreas de cultivo, porém até 2000 a.C. a 1000 a.C. (Ellis, Beusen and Goldewijk, 2020; Long *et al.*, 2022; Tançau *et al.*, 2022) estas mudanças não representavam nem 1% do total da superfície terrestre. Apenas a partir do ano 1 d.C. é que começaram grandes assentamentos na região da Mesopotâmia e Oriente Médio e, a partir de 1880, já havia cerca de 25% da superfície com alterações causadas pela ocupação humana e após 2020, esta mudança já alcançava 50% da superfície (Ellis, Beusen e Goldewijk, 2020).

Essa velocidade de mudanças está diretamente ligada ao crescimento populacional que foi permitido pelo desenvolvimento das técnicas de agricultura, porém esse crescimento, quase exponencial, tem se tornado um dos principais desafios da atualidade uma vez que a produção de alimentos deve ser proporcional ao crescimento da população mundial (Schaal, 2019; Kooza *et al.*, 2022).

A partir da Revolução Industrial a população mundial aumentou ainda mais e passou a consumir combustíveis fósseis em alta quantidade, o que vem refletindo nas mudanças climáticas que agravam os problemas de escassez de alimentos (Mohajan, 2019; Gowdy, 2020). Estudos predizem que a temperatura global pode ser elevada de 3°C a 4°C até o ano de 2100, podendo causar instabilidade climática compatível com o período Pleistoceno, quando não havia possibilidade de prática da agricultura

(Gowdy, 2020). Dados do e Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC (2023) apontam que, em um cenário de aumento na temperatura em torno de 4°C, aumentem a frequência e a severidade das ondas de calor em até 9,4 vezes e, como consequências, na severidade das tempestades e secas. A Organização das Nações Unidas (ONU) calcula que a população humana deva alcançar 8,6 bilhões de indivíduos até 2030, o que significa o aumento na pressão pela produção de mais alimentos, juntamente com o aumento causado por fatores abióticos, como seca e salinidade, sobre as plantas e o meio ambiente (Schaal, 2019).

Toda essa expansão populacional e de suas necessidades refletem problemas que muitas vezes, passam despercebidos pelo público leigo, como a escassez de terras aráveis devido à ocupação humana, salinização, variações climáticas e poluição (Kooza *et al.*, 2022). As plantas, por serem organismos sésseis, possuem várias formas de se adaptar às alterações ambientais como forma de sobrevivência tais como: mudanças de luminosidade, alterações de temperatura, disponibilidade de água e presença de patógenos. Porém, mesmo lançando mão de vários recursos adaptativos, a pressão exercida por fatores estressores pode agravar os impactos sobre seu desenvolvimento (Ma *et al.*, 2020; Miryeganeh, 2021; Kooza *et al.*, 2022).

Calcula-se que os estresses abióticos possam afetar negativamente o rendimento das culturas em 50% ou mais, reduzindo o rendimento e a produção (Cai *et al.*, 2020). Pode-se dividir os estresses abióticos em duas classes: de origem atmosférica e de origem edáfica. Os estresses de origem atmosféricas se caracterizam por variação de precipitação pluvial intercaladas com períodos longos de estiagem, chuvas ácidas, temperaturas extremas e excesso de radiação solar. Já os fatores abióticos de origem edáfica se relacionam com processos de salinização (como o uso de água salobra para a irrigação), uso de lodo para fertilização e aplicação de agroquímicos (Ma *et al.*, 2020; Igiehon *et al.*, 2021; Mohammadi *et al.*, 2021; Kooza *et al.*, 2022).

2- Fatores abióticos

Talvez o fator abiótico de maior impacto seja a baixa disponibilidade de água que pode ocorrer devido à baixa precipitação pluvial, precipitação pluvial inconstante ou mesmo por processos de salinização. Estes dois processos estão interligados pois, naturalmente quando há forte precipitação atmosférica em áreas mais áridas, há o

acúmulo de água no lençol freático próximo à superfície que, após a evaporação, provocará o acúmulo de íons no solo (Corwin, 2020; Ma *et al.*, 2020). Porém este processo pode ser acelerado quando os processos agrícolas utilizam irrigação de maneira inadequada como, por exemplo, quando em zonas áridas há taxa de evaporação muito alta, contribuindo para o acúmulo excessivo de sais minerais no solo. Outras formas antrópicas de acelerar o processo de salinização é a utilização de água salobra ou até salgada nas irrigações que, eventualmente em áreas costeiras, pode ocorrer de forma indireta devido à diminuição do lençol freático por uso excessivo, o que pode permitir a intrusão de água salgada, a aplicação excessiva de pesticidas e fertilizantes e despejo de resíduos industriais e municipais que contaminam o solo e lençol freático tanto com microrganismos quanto com resíduos químicos e metais pesados (Corwin, 2020; Ma *et al.*, 2020).

As alterações osmóticas causadas pelos processos de salinização provocam maiores impactos principalmente em regiões áridas, semi-áridas e costeiras e podem levar a sérias consequências, desde a redução do crescimento das plantas até a perda da colheita (Hussain *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2020). O acúmulo de metabólitos, causados pelas alterações de homeostase, também podem ativar vias de sinalização que podem alterar época de floração, redução da fertilidade do pólen e diminuição do número de sementes (Hussain *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2020).

Alterações de temperatura também podem provocar alterações no comportamento das plantas, principalmente as sazonais. Mesmo diminuições de temperaturas podem alterar a membrana plasmática causando quadros de desidratação e mesmo ativar vias de sinalização de estresse hídrico e salino devido a eventos de *crosstalk* (Piao *et al.*, 2019; Corwin, 2020; Ma *et al.*, 2020). Temperaturas elevadas afetam negativamente o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo e estudos preditivos vêm demonstrando aumentos progressivos na temperatura global, com aumentos maiores para áreas cultivadas (Corwin, 2020). O acúmulo de dióxido de carbono (CO₂) atmosférico tem se mostrado benéfico quanto ao desenvolvimento das plantas, porém o impacto desse acúmulo sobre a temperatura se torna muito maior principalmente que levando em conta todas as consequências negativas do aquecimento global e efeito estufa provocando por este poluente atmosférico (Piao *et al.*, 2019; Corwin, 2020). Estudos demonstraram que, em tomates, o gene SIHSFA2 (relacionado a fatores de transcrição de choque térmico), sob temperaturas moderadas, aumenta a tolerância ao calor, permitindo maior resistência das mudas

quando expostas a temperaturas severas, porém, quando reprimido, há redução da viabilidade do pólen e diminuição das taxas de germinação (Zhu, 2016; Ma *et al.*, 2020).

A insolação ou radiação também pode influenciar negativamente o desenvolvimento das plantas, mesmo estas sendo bastante adaptáveis a ampla faixa de espectro de luz. O estresse por luz nas plantas ocorre quando a intensidade, duração ou qualidade da luz excede a faixa ideal para o crescimento e desenvolvimento da planta (Ma *et al.*, 2020; Giannakoula, Therios e Chatzissavvidis, 2021). Mesmo sendo essencial para a realização da fotossíntese, a luz excessiva pode danificar o aparato fotossintético, levando à redução do crescimento, diminuição da produtividade e até a morte (Ma *et al.*, 2020; Giannakoula, Therios e Chatzissavvidis, 2021).

Outro fator abiótico de grande importância é o acúmulo de metais pesados no solo que impactam todo o ecossistema (planta, animais, humanos e microrganismos) causando toxicidade, uma vez que não são biodegradáveis. Metais pesados como cádmio (Cd), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cobre (Cu) e zinco (Zn) podem se acumular nas plantas causando estresse oxidativo, podendo interromper os processos fisiológicos e, por fim, levar à redução do crescimento e da produtividade além de afetar toda a cadeia alimentar (Giannakoula, Therios e Chatzissavvidis, 2021; Kidwai e Dhull, 2021). O cobre, por exemplo, é um micronutriente essencial para as plantas que está envolvido em muitos processos bioquímicos e fisiológicos, porém, em concentrações excessivas (acima de 200mg/Kg) pode causar danos oxidativos e, sua toxicidade no solo dificilmente é eliminada (CONAMA, 2010; Giannakoula, Therios e Chatzissavvidis, 2021). Outro metal pesado porém, não essencial às plantas, é o chumbo. Este metal tem como limite máximo em áreas agrícolas, a concentração de 180mg/Kg de solo, e pode se acumular nas raízes devido ao descarte de esgoto doméstico e industrial, uso excessivo de pesticidas e fungicidas e, devido à sua alta toxicidade pode afetar diretamente seres humanos e animais (CONAMA, 2010; Giannakoula, Therios e Chatzissavvidis, 2021; Kidwai e Dhull, 2021).

3- Fatores bióticos

Fatores bióticos referem-se a organismos vivos e suas interações uns com os outros, podendo afetar o crescimento e o cultivo das plantas como insetos, ácaros e

nematóides (Sawicka e Egbuna, 2020; Singh *et al.*, 2020). Estes fatores podem danificar as raízes, folhas e frutos das plantas, reduzindo seu crescimento e o rendimento, bem como favorecer a presença de plantas competidoras que disputam recursos como água, nutrientes e luz solar. Microrganismos patógenos capazes de causar doenças severas que podem culminar em perda da colheita (Sawicka e Egbuna, 2020; Singh *et al.*, 2020; Beretta *et al.*, 2022).

Porém, alguns fatores bióticos podem exercer influência positiva sobre a cultura agrícola, como a presença de organismos do solo (bactérias, fungos e anelídeos) que podem afetar o crescimento e a saúde das plantas decompondo a matéria orgânica, fixando o nitrogênio e melhorando a estrutura do solo e promovendo o crescimento e a saúde das plantas por meio de relações mutualísticas (Nwokolo *et al.*, 2021; Kooza *et al.*, 2022). Além disso, estudos comprovam que muitos microrganismos são capazes de auxiliar na fixação de nitrogênio atmosférico, decomposição de resíduos orgânicos, eliminação de resíduos de agroquímicos, resistência a fitopatógenos, melhora na disponibilização de nutrientes, aumento na produção de biocompostos como hormônios, vitaminas e enzimas (Pacios-Michelena *et al.*, 2021; Kooza *et al.*, 2022).

A relação planta-microrganismo permite o aumento da capacidade das plantas em se adaptar a vários tipos de estressores, muitas vezes, facilitando o seu desenvolvimento e estas interações podem ocorrer por processos endofíticos, epifíticos (sobre as superfícies dos tecidos vegetais) ou rizosféricos, interagindo com as raízes (figura 1). Os microrganismos endofíticos são bactérias ou fungos que residem no interior das plantas, seja na parte aérea ou nas raízes (Woźniak *et al.*, 2019; Verma *et al.*, 2021). Microrganismos rizosféricos abrangem bactérias fixadoras de nitrogênio formadoras de nódulo e fungos micorrízicos além de outros microrganismos que interagem com as raízes, mas sem processos invasivos capazes de contribuir, de forma significativa com a solubilização e mineralização de fósforo (Woźniak *et al.*, 2019).

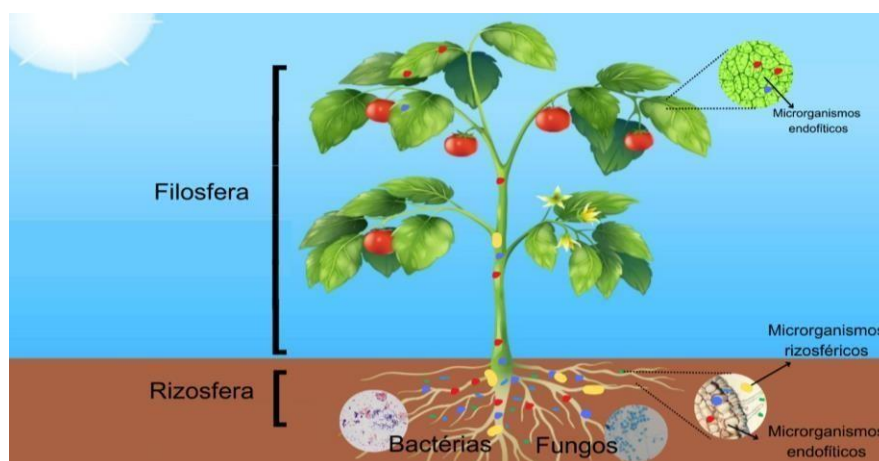


Figura 1. Visão esquemática das interações microorganismo-planta em regiões de filosfera e rizosfera (Fonte: Elaborada pelo autor)

4- Interação microorganismo-planta

Plantas e microrganismos têm uma relação complexa e importante, onde os microrganismos desempenham papéis essenciais na ciclagem de nutrientes, controle de doenças e crescimento das plantas. Uma das interações mais importantes entre plantas e microrganismos é a troca de nutrientes. As plantas requerem nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio para crescer, mas esses nutrientes geralmente são limitados no solo. Por meio da decomposição de matéria orgânica, nutrientes que estariam indisponíveis ou em baixa quantidade são disponibilizados (Woźniak *et al.*, 2019; Soong *et al.*, 2020).

Além da troca de nutrientes, alguns microrganismos também formam relações mutualísticas com as plantas, proporcionando-lhes benefícios adicionais, como os fungos micorrízicos que formam essas relações com as raízes das plantas (Harman, Gary e Norman, 2019; Songachan *et al.*, 2023). Por meio da formação de uma rede de hifas, estes fungos aumentam a capacidade de retenção de água no solo e trocam nutrientes por carboidratos produzidos pelas plantas melhorando o rendimento das culturas (Ganugi *et al.*, 2019; Songachan *et al.*, 2023).

Existem dois tipos de micorrizas, as ectomicorrizas e as endomicorrizas. As ectomicorrizas compreendem, geralmente, Basidiomicetos e não invadem as células das raízes, mas se emaranham ao seu redor e espaço intercelular, formando a rede de Hartig (Ganugi *et al.*, 2019; Khullar e Reddy, 2019). As endomicorrizas se subdividem em arbuscular, ericóides e orquidóides, sendo que estes dois últimos tipos ocorrem apenas em plantas das famílias Ericaceae e Orchidaceae (Ganugi *et al.*, 2019; Khullar e Reddy, 2019). Já as micorrizas arbusculares ocorrem na maioria das

plantas e pertencem à ordem Glomales de Zigomicetos e formam arbusculos a partir da penetração das hifas nas células corticais por mecanismo de invaginação destas. Apenas algumas micorrizas arbusculares são capazes de formar vesículas inter- ou intracelulares ricos em lipídeos, porém todas formam os arbúsculos, aumentando consideravelmente a superfície de absorção de nutrientes das plantas e só germinam na presença destas (Ganugi *et al.*, 2019; Khullar e Reddy, 2019; Songachan *et al.*, 2023).

Quando as plantas reconhecem a presença de patógenos, há uma reação natural, para sua preservação, com o espessamento das células do parênquima e a formação de papilas contendo calose, fenóis, proteínas e silicone (substâncias com ação defensiva), porém na interação com as micorrizas arbusculares há a formação de apressório porém sem que ocorra resposta exacerbada da planta, permitindo que o fungo consiga modular o sistema de defesa da planta permitindo sua colonização (Ganugi *et al.*, 2019; Kaur *et al.*, 2022; Songachan *et al.*, 2023).

Fungos promotores de crescimento de plantas (FPCP) são um grupo de fungos que vivem no solo e colonizam a zona radicular das plantas promovendo o crescimento e melhorando a saúde das plantas por vários mecanismos, como aquisição de nutrientes, supressão de doenças e tolerância ao estresse (Adedayo e Babalola, 2023). Espécies como *Trichoderma*, *Talaromyces*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Gliocladium* e *Actinomucor* têm sido frequentemente relatadas (quadro 1) como sendo capazes de aumentar o rendimento das culturas por melhorar e desenvolvimento de brotos e raízes, aumentar a germinação das sementes e da produção de clorofila além de aumentar a imunidade inata e a produção de metabólitos secundários importantes nas plantas (Murali *et al.*, 2021; Adedayo e Babalola, 2023).

Quadro 1. Mecanismo de promoção de crescimento vegetal mediado por fungos em diferentes plantas cultivadas.

Fungo	Efeito	Planta	Referência
<i>Actinomyces elegans</i>	Aumento dos teores de clorofila, carotenóides, proteínas, aminoácidos, atividades antioxidantes, ácido salicílico, glicose, frutose e sacarose, e diminuição da produção de peróxido de hidrogênio e metabolismo lipídico sob estresse salino	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Kazerooni et al. (2022)
<i>Aspergillus flavus</i>	Aumento de peso fresco, densidade de raiz lateral, pelos radiculares, comprimento das plantas e resistência contra <i>Alternaria phragmospora</i> .	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Abdel-Motaal et al. (2020)
<i>Gliocladium cibotii</i>	Aumento dos teores de clorofila, biomassa total, altura e redução de ROS sob estresse térmico	<i>Glycine max</i> L. e <i>Helianthus annuus</i> L.	Hamayun et al. (2021)
<i>Mortierella elongata</i>	Aumento da altura, área foliar e peso seco	<i>Citrullus lanatus</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> e <i>Cucurbita</i>	Ozimek and Hanaka (2020)
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	Inibição de fitopatógenos, solubilização de fosfatos, secreção de sideróforos e AIA, além de aumento de comprimento de raiz, peso seco	<i>Triticum</i> sp. (comprimento de raiz) <i>Sesamum indicum</i> , <i>Zea mays</i> e <i>Nicotiana tabacum</i> (peso seco total)	Zhao et al. (2021)
<i>Podospora bulbillosa</i>	Aumento dos teores de clorofila, carotenóides, proteínas, aminoácidos, atividades antioxidantes, ácido salicílico, glicose, frutose e sacarose, e diminuição da produção de peróxido de hidrogênio e metabolismo lipídico sob estresse salino	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Kazerooni et al. (2022)
<i>Talaromyces purpurogenus</i> SW-10	Mineralização de fosfato orgânico insolúvel, aumento de peso seco de raiz e parte aérea e da altura das plantas	<i>Zea mays</i>	Sun et al. (2023)
<i>Trichoderma koningiopsis</i> T-51	Inibição de <i>Botrytis</i> e <i>Fusarium</i> por produção de compostos voláteis orgânicos e aumento de tamanho e peso seco das plantas	<i>Arabidopsis thaliana</i>	You et al. (2022)

Os FPCP's promovem o crescimento das plantas aumentando a disponibilidade de nutrientes, como fósforo e nitrogênio por meio da solubilização e mobilização de nutrientes no solo, tornando-os mais acessíveis. Além disso, alguns fungos podem fixar nitrogênio atmosférico, o que pode fornecer às plantas uma fonte desse nutriente essencial (Murali et al., 2021; Adedayo e Babalola, 2023). Outra maneira pela qual os FPCP's promovem o crescimento das plantas é suprimindo o desenvolvimento de fitopatógenos por meio da produção de compostos antifúngicos (protease, quitinase e β -1,3 glucanase), competição por recursos ou induzindo resistência sistêmica em plantas, inclusive por meio de estimulação da reação de hipersensibilidade com produção acelerada de ROS (espécies reativas de Oxigênio) e necrose local. Ao reduzir o impacto de patógenos de plantas, os FPCP's podem melhorar a saúde das plantas e aumentar o rendimento das culturas (Murali et al., 2021).

Além disso, os FPCP's também podem ajudar as plantas a tolerarem estresses ambientais, como seca, salinidade e altas temperaturas, regulando os níveis de fitormônios, produzindo compostos que eliminam espécies reativas de oxigênio, como

ascorbato e glutathiona, e aumentando a atividade de enzimas antioxidantes (Murali *et al.*, 2021; Verma *et al.*, 2022; Adedayo e Babalola, 2023).

Outros tipos de microrganismos envolvidos nas interações com as plantas são as bactérias endofíticas. Estas são microrganismos que residem no interior das células vegetais, sem causar danos aparentes à planta, podendo ser encontrados em toda estrutura vegetal (sementes, raízes, caule, folhas e frutos) sendo que as endobactérias de sementes são consideradas simbiontes primários, podendo ser transferidas por várias gerações (Afzal *et al.*, 2019; Verma *et al.*, 2021). Vários tipos de bactérias endofíticas têm sido descritos como os gêneros *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Klebsiella* e *Herbaspirillum*, (quadro 2) como capazes de solubilizar fosfatos inorgânicos, produzir proteases, lipases, celulasas e sideróforos, podendo aumentar a resistência às condições de estresses abióticos (Afzal *et al.*, 2019; Woźniak *et al.*, 2019). Além desses gêneros, estudos vêm demonstrando que bactérias endofíticas dos gêneros *Enterobacter*, *Rahnella*, *Rhodobacter*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* e *Phyllobacterium* (quadro 2) também são capazes de produzir auxinas a de se desenvolver em meio livre de nitrogênio, melhorando desta forma, o crescimento e a produção das culturas (Afzal *et al.*, 2019; Woźniak *et al.*, 2019). Algumas bactérias endofíticas também podem sintetizar compostos antimicrobianos e antifúngicos (como *Enterobacter hormaechei*, *Bacillus zanthoxyli*) e que ajudam na proteção contra fitopatógenos além de serem descritas como capazes de produzir compostos bioativos com propriedades farmacológicas úteis, como a produção de antibióticos e a síntese de moléculas com atividade antitumoral e antiviral (Afzal *et al.*, 2019; Monowar *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2022).

Quadro 2. Mecanismo de promoção de crescimento vegetal mediado por bactérias em diferentes plantas cultivadas.

Bactéria	Efeito	Planta	Referência
<i>Enterobacter cloacae</i>	Melhorou significativamente o crescimento, além do índice de germinação, biomassa da parte aérea e radicular e índice de vigor da semente	<i>Oryza sativa</i> (arroz), <i>Arachis hypogaea</i> , <i>Vigna mungo</i> e <i>Brassica rapa</i> var. <i>Toria</i>	Panigrahi, Mohanty and Rath (2020)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i> SmR1	Aumento da área radicular e do número de raízes laterais	<i>Setaria viridis</i>	Alves <i>et al.</i> (2019)
<i>Klebsiella</i> sp. PD3	Aumento do desempenho de crescimento, produção de biomassa, taxa de germinação de sementes, capacidade fotossintética, níveis de antioxidantes, conteúdo relativo de água e acúmulo de clorofila sob condições de estresse com fenantreno.	<i>Oryza sativa</i> L.	Li <i>et al.</i> (2020)
<i>Pantoea eucalypti</i> M91	Aumento do acúmulo de nitrogênio, fósforo e zinco	<i>Leptotes tenuis</i>	Cumpa-Velásquez <i>et al.</i> (2021)
<i>Phyllobacterium endophyticum</i> PEPV15	Aumento do rendimento de brotos e raízes	<i>Lactuca sativa</i> L. (brotos) e <i>Daucus carota</i> L. (raízes)	Flores-Félix <i>et al.</i> (2021)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Aumento de comprimento de parte aéreas, vagens, número de grãos e rendimento total sob estresse hídrico.	<i>Vigna radiata</i>	Uzma, Iqbal and Hasnain (2022)
<i>Rahnella aquatilis</i> JZ-GX1	Aumento da germinação e do comprimento de raiz	<i>Zea mays</i>	Li <i>et al.</i> (2021)
<i>Rhizobium laguerreae</i> PEPV16	Aumento do rendimento de brotos e raízes	<i>Lactuca sativa</i> L. (brotos) e <i>Daucus carota</i> L. (raízes)	Flores-Félix <i>et al.</i> (2021)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KE149	Diminuiu o ácido abscísico endógeno e o ácido jasmônico e aumentou o ácido salicílico em plantas sob estresse de inundação e estresse hídrico	<i>Vigna angularis</i>	Kang <i>et al.</i> (2020)
<i>Serratia marcescens</i> S2I	Aumento da resistência ao Cádmio (CD)	<i>Oryza sativa</i>	Kotoky <i>et al.</i> (2019)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> JVB 5	Aumento de peso fresco	<i>Helianthus annuus</i> L	Adeleke, Ayangbenro and Babalola (2022)

Por meio de alguns estudos é possível observar que a diversidade microbiana da rizosfera difere significativamente dos microrganismos endofíticos da raiz, sugerindo que a raiz da planta influencia a entrada seletiva e na colonização interna por microrganismos (Verma *et al.*, 2021).

A simbiose entre microrganismos e plantas têm se mostrado muito mais profunda, com estudos demonstrando a simbiose tripartida, na qual a persistência de um microrganismo de importância para a planta, depende da existência outro microrganismo, ou mesmo quando a interação entre dois microrganismos beneficia diretamente a planta hospedeira (Afkhami *et al.*, 2020; Verma *et al.*, 2021). Em estudo de Verma *et al.* (2021) foi demonstrado que a interação entre o fungo *Curvularia protuberata* e o vírus CThTV (Vírus de Tolerância Térmica da *Curvularia*) permite que a planta, colonizada por estes microrganismos, desenvolva tolerância a altas temperaturas. Em outro estudo foi demonstrado que a associação de fungos micorrízicos arbusculares com bactérias do tipo rizóbio foram capazes de aumentar a

massa de raiz de *Amorpha canescens* em 280% (Afkhami *et al.*, 2020). Em estudo de Pérez-de-Luque *et al.* (2017) foi verificada que a interação entre fungos micorrízicos e a *Pseudomonas putida* aumentaram, sinergicamente, a ativação do sistema imunológico do trigo.

Os microrganismos endófitos, sejam bactérias ou fungos, podem ser transmitidos verticalmente, por meio das sementes, ou horizontalmente, por meio da entrada por aberturas ou feridas naturais na planta ou por meio do uso de enzimas, como endo-glucanase e endo-poliglucanase, capazes de lisar as células vegetais e, uma vez que conseguem penetrar na estrutura vegetal, passam a colonizar inter/intracelularmente ou, até mesmo, nos espaços periplasmáticos. Porém seu comportamento na colonização depende de muitas variáveis, como cepa microbiana, idade da planta, local de penetração entre outros fatores (Afzal *et al.*, 2019; Verma *et al.*, 2021). Rodriguez *et al.* (2009) propuseram uma classificação para fungos endófitos: classe 1 (colonização de partes aéreas com transmissão vertical), classe 2 (colonização sistêmica e transmissão tanto horizontal quanto vertical), classe 3 (colonização das partes aéreas com transmissão tanto horizontal quanto vertical) e classe 4, com a colonização apenas das raízes e transmissão, predominantemente, horizontal. O fungo *Serendipita indica* foge a este sistema de classificação pois apresenta fase saprofítica e fase simbiótica, expressando diferentes formas de colonização, dependendo do estágio de desenvolvimento da planta hospedeira. Geralmente sua colonização se dá a partir das pontas das raízes para as mais maduras além do fato dele necessitar da morte celular da região de iniciação da colonização. As repostas fisiológicas da planta a este processo estimulam o fungo a modificar seu comportamento saprofítico para simbiótico havendo, como resultado, uma maior colonização e beneficiamento de ambos, planta e fungo (Verma *et al.*, 2021).

5- Mecanismos de promoção de crescimento vegetal

Os mecanismos de promoção de crescimento podem ser classificados como diretos e indiretos. Os diretos incluem fixação biológica de nitrogênio, solubilização de nutrientes minerais como fósforo (P), zinco (Zn) e potássio (K), produção de fitohormônios (auxinas, citocininas, giberelinas, etc) quelagem de ferro por sideróforos, produção de aminociclopropano- 1- carboxílico ácido (ACC), acetoína e

2,3-butanodiol deaminase. Já os mecanismos indiretos envolvem a produção de antibióticos, produção de enzimas líticas e indução de resistência (Woźniak *et al.*, 2019; Verma *et al.*, 2021).

5.1- Fixação de nitrogênio

O nitrogênio é um nutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, mas muitas vezes é um fator limitante em muitos ecossistemas, devido à sua pouca disponibilidade. A fixação de nitrogênio é o processo pelo qual certas bactérias e archaeas convertem o nitrogênio atmosférico em formas que podem ser assimiladas pelas plantas, como amônia, nitrito e nitrato (Soumare *et al.*, 2020; Aasfare *et al.*, 2021; Xiong *et al.*, 2021). Estas formas de nitrogênio assimiláveis não são encontradas em abundância no solo e, mesmo realizando processos de adubação nitrogenada, há uma perda grande devido a processos de lixiviação (Aasfar *et al.*, 2021; Xiong *et al.*, 2021).

Bactérias endofíticas, como *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, colonizam as raízes das plantas, formando estruturas chamadas nódulos, onde convertem o gás nitrogênio atmosférico em amônia que pode ser utilizada pela planta. Em troca, a planta fornece às bactérias energia na forma de carboidratos (Aasfar *et al.*, 2021; Xiong *et al.*, 2021). Outros microrganismos fixadores de nitrogênio, como bactérias de vida livre (*Azospirillum*, *Azoarcus*, *Azotobacter*, *Bacillus polymyxa*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter* ou *Herbaspirillum*) e cianobactérias (por exemplo, *Trichodesmium*), também desempenham papéis importantes na ciclagem de nitrogênio. Esses microrganismos podem ser encontrados no solo e em ambientes aquáticos (Soumare *et al.*, 2020; Aasfar *et al.*, 2021; Xiong *et al.*, 2021).

O processo de fixação biológica de nitrogênio é realizado pelo complexo enzimático conhecido como Nitrogenase, que é composta por duas metaloproteínas, [Fe-Mo]proteína (também denominada dinitrogenase ou componente I) e Fe-proteína (também conhecida como dinitrogenase redutase ou componente II), sendo que a maioria das reações de fixação ocorrem na nitrogenase de molibdênio, que possui o sítio ativo da reação de redução no nitrogênio, e que é encontrada em todos os microrganismos diazotróficos (Harwood, 2020; Soumare *et al.*, 2020; Strange, 2022). Porém só é expressa em presença de molibdênio. Quando nesta situação, porém na presença de vanádio, a Fe-proteína, que é mais sensível ao oxigênio que a [Fe-Mo]-

proteína, é modificada compensando este processo. Porém alguns estudos demonstraram menor eficiência desta forma da nitrogenase (Harwood, 2020; Strange, 2022).

5.2- Solubilização de fósforo

O fósforo é o segundo macronutriente de maior importância para as plantas, e é considerado limitante do crescimento participando da composição de ácidos nucleicos, enzimas, coenzimas, nucleotídeos e fosfolípidos e de vários processos fisiológicos como fotossíntese, formação, desenvolvimento e maturação, resistência a doenças, divisão e aumento celular, conversão de açúcar em amido e na própria fixação de nitrogênio (Muindi, 2019; Rawat *et al.*, 2020).

Sua disponibilidade no solo não é alta devido à fixação das suas formas insolúveis com ferro (Fe), alumínio (Al) e cálcio (Ca). Este fato se torna ainda mais importante em regiões tropicais e subtropicais, onde há alto grau de intemperismo e presença elevada de hidróxidos de ferro e alumínio (Muindi, 2019; Rawat *et al.*, 2020). Mesmo a adubação fosfatada pode não surtir efeitos duradouros, devido à alta taxa de formação de complexos de metalização que pode ocorrer em alta velocidade e, a longo prazo, causar eutrofização, esgotamento de fertilidade (devido à extração contínua de nutrientes sem reposição) e pegada de carbono, devido ao uso excessivo de fertilizantes nitrogenados (Muindi, 2019; Elhaissofi *et al.*, 2022).

A imobilização do fósforo no solo ocorre pela união com cátions como cálcio, alumínio e ferro, formando complexos de fosfato como fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), fosfato de alumínio (AlPO) e fosfato ferroso (FePO), que são formas insolúveis. Os microrganismos solubilizadores de fósforo são capazes de hidrolisar compostos orgânicos e inorgânicos a partir de compostos insolúveis por meio de alguns mecanismos, como a diminuição do pH do solo, quelação de cátions que podem se ligar ao fósforo e competição com o fósforo por sítios de adsorção no solo (Elhaissofi *et al.*, 2022).

A diminuição do pH do solo é um dos principais mecanismos, ocorrendo pela liberação de ácidos orgânicos, prótons, íons hidroxila e CO_2 e produção de sideróforos controlando as reações de quelação, liberando o fósforo quelado e permitindo a sua disponibilização para as plantas (Rawat *et al.*, 2020; Elhaissofi *et al.*, 2022). Os

principais ácidos liberados são os ácidos glucônico, oxálico, cítrico, láctico, tartárico e aspártico. O ácido glucônico é o principalmente ácido orgânico produzido por espécies de *Pseudomonas*, *Erwinia* e *Burkholderia* (Ingle e Padole, 2017; Elhaissofi *et al.*, 2022).

Além destes processos, fosfatos orgânicos são biodisponibilizados por microrganismos solubilizadores de fósforo por meio de processos de mineralização de restos de matéria orgânica em decomposição, por meio da ação de enzimas do tipo fosfatases (ácidas ou alcalinas) e fitases (Rawat *et al.*, 2020; Elhaissofi *et al.*, 2022). As fosfatases catalisam a hidrólise dos ésteres de fosfato, liberando fósforo inorgânico, sendo que as ácidas apresentam melhor desempenho em solos ácidos e as alcalinas, em ambientes mais alcalinos, como sedimentos de rios e lagos. As fitases, por sua vez, catalisam a hidrólise do ácido fítico (fitato), uma forma complexa de armazenamento de fósforo, geralmente presente nos grãos e sementes (Zhu e Wakisaka, 2020; Bhattacharjee, Chakraborty e Bhaumik, 2022)

Há diversas espécies microbianas solubilizadoras de fósforo, como bactérias, fungos, actinomicetos e algas, porém a maioria dos relatos envolvem bactérias (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Serratia*, *Chryseobacterium*, *Phyllobacterium*, *Azotobacter*, *Xanthomonas*, *Enterobacter*, *Pantoea* e *Klebsiella*) com população que varia em até 50% em abundância relativa do total do microbioma do solo e destacam sua maior habilidade neste processo (Ingle e Padole, 2017; Rawat *et al.*, 2020; Elhaissofi *et al.*, 2022).

5.3- Produção de fitohormônios

A fitoestimulação é a forma de modular o crescimento vegetal por meio da ação de fitormônios produzidos por microrganismos promotores de crescimento. Os principais fitormônios são as auxinas, citocinas e giberelinas (Mukherjee *et al.*, 2022). O ácido Indol-3-acético (AIA), a principal auxina estudada, é responsável pelo aumento da massa radicular, por meio da sua ação sobre processos de divisão e diferenciação celular, estimulação da germinação, aumento da taxa de desenvolvimento do xilema e das raízes além de ajudar na maior exudação radicular fornecendo aporte para a manutenção da população microbiana rizosférica (Gomes e Scortecci, 2021; Cancé *et al.*, 2022; Mukherjee *et al.*, 2022).

Plantas superiores são capazes de exudar, em suas raízes, triptofano, que é o principal precursor do AIA, o que pode explicar uma grande concentração de bactérias na rizosfera, capaz de produzir naturalmente o AIA (Kravchenko, *et al.*, 2004).

O mecanismo de ação da auxina (AIA) envolve a interação do hormônio com receptores específicos localizados na membrana celular, o que desencadeia a cascata de sinalização que resulta em alterações na expressão gênica e no comportamento celular. De modo geral, esta regulação ocorre por feedback negativo, onde a ligação da auxina ao seu receptor ativa o complexo proteico conhecido como SCF(TIR1/AFB) E3 ubiquitina ligase (figura 2), que tem como alvo o grupo de proteínas repressoras transcricionais chamadas Aux/IAAs para degradação. Isso leva à ativação de genes responsivos à citocina, que regulam vários aspectos do crescimento e desenvolvimento da planta (Gomes e Scortecci, 2021; Cancé *et al.*, 2022; Mukherjee *et al.*, 2022). Outros mecanismos, de menor ocorrência, ainda podem envolver feedbacks positivos ou negativos (Mukherjee *et al.*, 2022).

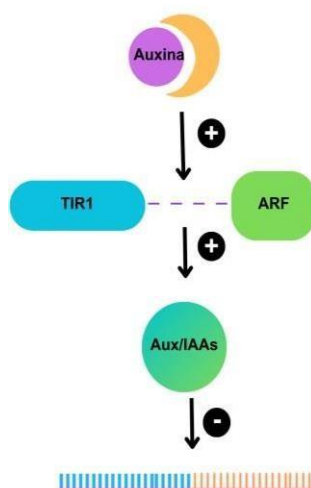


Figura 2. Mecanismo de regulação da Via TIR1/AFB. A regulação dos genes Aux/IAA, mediada pelo ARF, estabelece um ciclo de feedback negativo como, por exemplo, o fator de transcrição ARR1, que é responsivo à citocina, diminuindo a expressão do sítio-alvo adaptado de Mukherjee *et al.*, 2022).

As citocininas atuam sobre a divisão celular, melhorando o desempenho do desenvolvimento vegetal, bem como promovem o atraso nos processos de senescência, estimulam o crescimento das gemas laterais das raízes e regulam o transporte de nutrientes (Oshchepkov *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2021; Mukherjee *et al.*, 2022).

O mecanismo de ação da citocinina envolve a interação do hormônio com receptores específicos localizados na membrana celular, o que desencadeia a cascata de sinalização que resulta em alterações na expressão gênica e no comportamento celular. A ligação das citocininas aos seus receptores ativa a via de sinalização da histidina quinase, que envolve a fosforilação de várias proteínas, incluindo os reguladores de resposta (RRs). Os RRs ativados então regulam a expressão gênica interagindo com proteínas de ligação ao DNA, levando a mudanças no comportamento e crescimento celular (Oshchepkov *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2021).

As giberelinas também desempenham papel crucial na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas. Algumas das principais funções desse hormônio incluem alongamento do caule por estimulação da divisão celular, estimulação da germinação das sementes pela ação de enzimas hidrolíticas, desenvolvimento dos frutos além do retardo nos processos de senescência por meio de regulação gênica (Hernández-García, Briones-Moreno e Blázquez, 2021; Mukherjee *et al.*, 2022).

O mecanismo de ação da giberelina envolve a interação do hormônio com receptores específicos localizados na membrana celular, o que desencadeia a cascata de sinalização que resulta em alterações na expressão gênica e no comportamento celular. A ligação das giberelinas aos seus receptores ativa o complexo proteico conhecido como complexo receptor GA-GID1-DELLA, que tem como alvo a família DELLA de repressores transcricionais para degradação. Isso leva à ativação de genes responsivos à giberelina, que regulam vários aspectos do crescimento e desenvolvimento da planta (figura 3). A degradação das proteínas DELLA também alivia a repressão de outras vias de sinalização, levando à integração dos sinais da giberelina com os de outros hormônios e estímulos ambientais (Hedden, 2020; Hernández-García, Briones-Moreno e Blázquez, 2021).

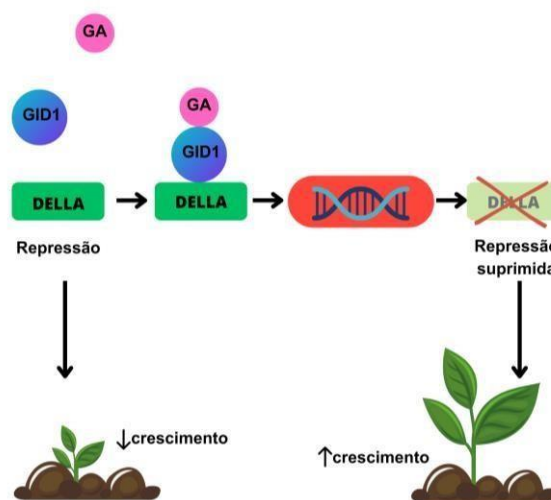


Figura 3. Modelo de regulação da proteína DELLA em resposta à giberelina (GA). Quando a molécula de GA se liga ao seu receptor, há interação com as proteínas DELLA, promovendo poliubiquitinação da proteína, e, por consequência, sua degradação, e promovendo o crescimento da planta (Adaptado de Gao *et al.*, 2011)

O ácido aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) é um hormônio vegetal de ocorrência natural que está envolvido na regulação de vários aspectos do crescimento e desenvolvimento da planta, incluindo amadurecimento de frutas, senescência e respostas ao estresse (Verma *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021). Este ácido também é produzido por algumas bactérias como parte de seus processos metabólicos, e por algumas bactérias associadas a plantas também como forma de modular o crescimento e desenvolvimento da planta (Verma *et al.*, 2021; Rodríguez Coca *et al.*, 2023). As plantas podem produzi-lo como resposta a vários estímulos ambientais (estresses salinos e hídricos, presença de patógenos e de metais pesados) sendo, então, convertido em etileno pela enzima ACC oxidase. Porém, em altas concentrações, o etileno induz a processos celulares que levam à inibição do crescimento e senescência prematura (Vocciante *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2021; Rodríguez Coca *et al.*, 2023).

Algumas rizobactérias (*Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*) produzem a ACC desaminase (ácido aminociclopropano- 1- carboxílico deaminase), que auxiliam no crescimento da planta além de reduzir os níveis de etileno, aumentando a tolerância da planta a diferentes tipos de estresses. (Verma *et al.*, 2021; Vocciante *et al.*, 2022; Rodríguez Coca *et al.*, 2023). Ironicamente, em oposição, algumas bactérias patogênicas também podem produzir ACC para interromper o crescimento da planta e promover o desenvolvimento de doenças, utilizando o ACC como fator de virulência para interferir nos mecanismos

de defesa da planta e promover seu próprio crescimento e sobrevivência (Verma *et al.*, 2021; Vocciante *et al.*, 2022).

5.4- Produção microbiana de compostos orgânicos voláteis

Os compostos orgânicos voláteis são de grande importância na modulação do crescimento das plantas além de poderem modular o sistema de defesa vegetal. Eles permitem que haja comunicação inter e intra espécies de microrganismos e são capazes de modificar algumas vias fisiológicas e hormonais das plantas (Chandrasekaran, Paramasivan e Sahayarayan, 2022; Sriram *et al.*, 2023). Além disso, sabe-se que estes compostos apresentam grande diversidade química, tendo sido descritos como produtos de diferentes gêneros microbianos (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthobacter*, *Serratia*, *Streptomyces* e *Trichoderma*) e sendo propagados por via aerógena, líquida ou mesmo pelo solo, podendo alcançar longas distâncias (Bavaresco *et al.* 2020; Dotson *et al.*, 2020; Poveda, 2021; Chandrasekaran, Paramasivan e Sahayarayan, 2022).

Dotson *et al* (2020) demonstram os efeitos regulatórios do composto 3-octanona, um composto orgânico volátil, atuando sobre a família de genes conhecida como *Kiss me Deadly* (KMD) responsável pela regulação negativa da sinalização positiva de auxinas e citocinas, modificando a taxa de crescimento da raiz e alterando a sua configuração.

Vários estudos relatam que os compostos orgânicos voláteis são capazes de desencadear atividade contra fitopatógenos (antifúngicas, antibacterianas, antinematódeos e anti insetos considerados pragas) além de ativar a imunidade inata da planta (Poveda, 2021; Chandrasekaran, Paramasivan e Sahayarayan, 2022; Sriram *et al.*, 2023). Du *et al* (2022) relataram que a produção de acetoina e de 2- heptanol, dois compostos voláteis produzidos por *Bacillus subtilis* foram capazes de reduzir em até 41,3% e 35%, respectivamente, a incidência de *Fusarium oxysporum*, fungo causador da podridão da coroa e raiz, em tomateiros.

Geralmente as ações antagônicas contra fungos estão relacionadas às produções de compostos dos tipos cariofileno, cianeto de hidrogênio, dimetil dissulfeto, dimetil trissulfeto, benzonitrila, entre outros. Já as atividades antibacterianas estão relacionadas à produção de agarofuran, 1-undeceno, metantiool,

dissulfeto de dimetila e etc (Chandrasekaran, Paramasivan e Sahayarayan, 2022; Sriram *et al.*, 2023). Já as atividades relacionadas às interações com insetos se referem, geralmente, à produção de compostos que se assemelham a feromônios e reconhecimento e adequação de habitat (Poveda, 2021; Chandrasekaran, Paramasivan e Sahayarayan, 2022). Os compostos voláteis também podem sinalizar para a atração de insetos e microrganismos que, de alguma forma, trarão benefícios seja para a planta ou para os microrganismos que os produziram (Poveda, 2021)

5.5- Produção de sideróforos

Os sideróforos são metabólitos secundários de baixo peso molecular produzidos por microrganismos e algumas plantas, para capturar ferro do ambiente. O ferro é um nutriente essencial para a maioria dos organismos e é o quarto elemento mais abundante no solo, mas muitas vezes é limitado no ambiente devido à sua baixa solubilidade por estar na forma de óxido férrico/hidróxido (Ferreira, Silva e Cunha, 2019; Ghosh, Bera e Chakrabarty, 2020).

Enterobactina, aerobactina e pioverdina são exemplos de sideróforos microbianos capazes de quelar o ferro do ambiente, permitindo sua biodisponibilidade, tanto para os microrganismos quanto para a planta, sua produção é aumentada em condições de baixa disponibilidade de ferro (Garg, Kumar e Bhati, 2021; Kundu *et al.*, 2023).

A quelação ocorre a partir da ligação do íon férrico (Fe^{3+}) ao sideróforo, fora da célula. Em seguida, receptores encontrados na membrana externa reconhecem o complexo formado (Fe^{3+} - sideróforo) os transportando para o citosol onde será convertido na forma solúvel (Fe^{2+}) para a disponibilização para as plantas (Ferreira, Silva e Cunha, 2019; Ghosh, Bera e Chakrabarty, 2020).

Segundo Schalk e Guillon (2013) os sideróforos podem ser classificados como catecolato, hidroxamato, fenolato, carboxilato e misto, que possuem dois ou mais grupos funcionais (Holden e Bachman, 2015). Os sideróforos do tipo catecolato são produzidos por algumas bactérias, como a *Klebsiella pneumoniae*, e contém catecolato e um grupo hidroxila, permitindo que o íon férrico se ligue nas hidroxilas ou catecolato adjacentes. Os sideróforos do tipo hidroxamato são os mais comuns, sendo produzidos tanto por bactérias quanto por fungos e contendo, principalmente

grupos com ligações de C(=O) N-(OH) associados a algum aminoácido. Já os sideróforos do tipo carboxilato são produzidos por poucos microrganismos, tais como *Rhizobium*, *Staphylococcus* e fungos como *Mucorales*, e se ligam aos íons férricos por meio de grupos carboxila e hidroxila apresentando alta hidrofília. E, por fim, os sideróforos do tipo misto, catecolato-hidroxamato, são produzidos por microrganismos que possuem estes dois grupos de sideróforos, como *Pseudomonas* e *Rhodococcus* (Schalk e Guillon, 2013; Holden e Bachman, 2015; Ghosh, Bera e Chakrabarty, 2020).

Metais pesados são compostos por número atômico de pelo menos 20 e densidade superior a 5 g/cm³ sendo encontrados no ambiente em baixíssima quantidade uma vez que muitos minerais e rochas podem contê-los e liberá-los por erosão e dissolução da água. Alguns desses metais são considerados como essenciais às plantas ou aos microrganismos, como ferro, cobre e zinco. Porém outros não são considerados essenciais, podendo estar presente no solo em concentrações mais elevadas, como resultados de contaminação, como o cádmio, mercúrio, chumbo, cobre, cromo, arsênico e níquel sendo, que estes citados, os mais comuns de serem encontrados em solos contaminados e, dependendo da concentração, se tornam tóxicos (Grobela e Hiller, 2017; Barra Caracciolo e Terenzi, 2021).

Os metais pesados podem se ligar fortemente a grupos sulfidrilos, fosfatos e hidroxilos, gerar ROS, competir pela aquisição de íons essenciais e provocar desequilíbrio iônico celular e osmótico, causando prejuízos aos organismos intoxicados (Caracciolo e Terenzi, 2021).

A resposta das plantas à presença de altas concentrações de metais pesados pode variar, de acordo com a espécie. Algumas espécies, conhecidas com hiperacumuladoras, podem acumular altas concentrações de metais pesados, sendo muito indicadas para processos de biorremediação, porém não são indicadas para locais onde são cultivadas plantas para alimentação devido, ainda a poucas pesquisas, e baixa garantia de qualidade nas concentrações finais de metais pesado no solo (Ojuederie e Babalola, 2017; Caracciolo e Terenzi, 2021). Já outras espécies de plantas podem sinalizar, por meio de exsudatos radiculares, para a agregação de microrganismos melhor produtores de sideróforos. Isto porque, a maioria dos microrganismos produtores de sideróforos, são de vida livre (Grobela e Hiller, 2017; Caracciolo e Terenzi, 2021). Desta forma, os sideróforos, além de fornecerem nutrientes essenciais às plantas, também podem se ligar a vários metais pesados, auxiliando as plantas na resistência à intoxicação por metalóides.

Outras formas de resistência a metais pesados, com reflexos positivos para as plantas, são as metalotioneínas, fitoquelatinas e a acil-homoserina lactona. Metalotioneínas são proteínas de baixo peso molecular, com alto teor de cisteína e localizadas no citosol, capazes de fazer ligações com metais pesados, além de atuarem nas respostas ao estresse. São produzidas por vários tipos de organismos, incluindo plantas e bactérias e sua produção ocorre na presença de metais pesados (Ojuederie e Babalola, 2017; Balzano *et al.*, 2020; Caracciolo e Terenzi, 2021).

Fitoquelatinas são peptídeos compostos pelos aminoácidos gama-glutamato e cisteína que são sintetizados em resposta ao estresse por metais pesados em plantas, bactérias, cianobactérias e fungos. São sintetizadas como uma resposta ao estresse por metais pesados e desempenham um papel na proteção do organismo contra a toxicidade do metal. As fitoquelatinas se ligam a íons de metais pesados e os sequestram no vacúolo celular, impedindo-os de danificar os componentes celulares. Isso permite que o organismo sobreviva em ambientes com altas concentrações de metais pesados, como solos contaminados ou resíduos industriais (Balzano *et al.*, 2020; Tripathi e Poluri, 2021).

A acil-homoserina lactona (acilHSL) é também um metabólito secundário definido como sinal autoindutor, relacionado a atividades de *quorum sensing* de bactérias Gram negativas, que pode ativar vias de regulação para resistência a metais pesados, porém os mecanismos ainda não estão completamente elucidados. No entanto, estudos sugerem que os metais pesados podem interferir na detecção de *quorum sensing* em algumas bactérias que usam acilHSL como moléculas de sinalização por meio da inibição da produção deste metabólito (Caracciolo e Terenzi, 2021).

6- Biofertilizantes

A Integração de tecnologias de ponta e práticas inovadoras para produção de alimentos de forma mais sustentável e eficiente é o que define as bases para a aplicação de bioinoculantes (quadro 3). O desafio de aumentar a produção de alimentos, de acordo com a demanda populacional e, ao mesmo tempo, atender às exigências de consumidores cada vez mais exigentes quanto à qualidade dos alimentos produzidos, têm produzido estudos que calculam que a agricultura deva se

tornar 70% mais produtiva até 2050 (Fraser e Campbell, 2019; Seenivasagan e Babalola, 2021).

Quadro 3. Relação de alguns biofertilizantes disponíveis no mercado.

Inoculante	Nome comercial	Fabricante	País	Referência
<i>Azospirillum brasilense</i> (AbV5)	Biomax® Azum	Vittia	Brasil	De Oliveira <i>et al.</i> (2021)
<i>Azospirillum brasilense</i> (Cepa COL-50)	Nitrofix®	BioFertilizar	Colômbia	Gómez Santiesteban <i>et al.</i> (2019)
<i>Azotobacter salinestris</i> CECT 9690	NutribioN®	Syngenta	Suíça	Stamatov and Velcheva (2020)
<i>Bacillus simplex</i> (<i>Bacillus</i> sp. S4)	Biotrinsic™ W10	Indigo	EUA	Olmo <i>et al.</i> (2022)
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , isolado CCT 1306	BTFERT SC®	Micro-Bio	Brasil	Meyer, Bueno and Mazaro (2022)
<i>Bacillus thuringiensis</i> , subsp. <i>kurstaki</i> CCT 1306	TARIK WP®	Vectorcontrol	Brasil	Meyer, Bueno and Mazaro (2022)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> cepas SEMIA 5079 e 5080	Rhizomax®	Novozymes BioAg	Dinamarca	Matsumura <i>et al.</i> (2021)
<i>Glomus intraradices</i> , <i>Glomus mosseae</i> , and <i>Glomus aggregatum</i>	Mycogrow®-Complex	Fungi Perfecti	EUA	Fernandez-Zarate <i>et al.</i> (2022)

Neste contexto, o uso de biofertilizantes é uma alternativa sustentável aos fertilizantes químicos, uma vez que, o uso destes podem reduzir a diversidade microbiana natural do solo e inclusive de microrganismos endófitos (quadro 4), já que o estímulo intenso para redução do tempo de crescimento da planta se torna um fator estressante na população microbiana endofítica (Morris, 2020, Chakraborty e Akhtar, 2021, Seenivasagan e Babalola, 2021). Formulações de biofertilizantes provenientes de consórcios microbianos podem ser a resposta para quem procura o aumento na produção com relação ao desenvolvimento das plantas (raízes, caules, folhas, grão e peso seco, por exemplo). Além disso, processos de engenharia genética e de nanotecnologias podem aprimorar ainda mais os produtos criados para aplicação (Chakraborty e Akhtar, 2021; Seenivasagan e Babalola, 2021).

Os biofertilizantes à base de Actinomicetos são interessantes pois estes microrganismos já são de origem rizosférica. São microrganismos Gram positivos, geralmente aeróbios e capazes de produzir compostos com atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral, anticancerígena e antioxidante, além de fitormônios, realizar a solubilização de fosfato, além de decompor matéria orgânica. Um dos representantes mais utilizados para formulações de biofertilizantes é o *Streptomyces* sendo que, algumas cepas (PC12, D4.1, D4.3 e W1) foram relatadas como capazes de controlar infecções causada pelo *Magnaporthe oryzae*, fungo causador da brusone, uma doença que afeta culturas de arroz em todo o mundo. Estas cepas são capazes de produzir cianeto de hidrogênio, sideróforos e enzimas que degradam a parede celular

(protease, celulose e quitinase), reduzindo a doença em até 56% (Chaiharn, Theantana e Pathom-Aree, 2020; Chakraborty e Akhtar, 2021; Jaitieng *et al.*, 2021).

A utilização de micorrizas arbusculares como biofertilizantes está cada vez mais crescente devido a todas as vantagens que a interação destes fungos com as plantas pode resultar. As espécies mais utilizadas têm sido *Glomus microagregatum*, *Funneliformis geosporum*, *Claroideo glomus etunicatum*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices* e *Glomus claroideum* e, se utilizadas junto a esterco acrescido de fosfato de rocha, têm sua ação potencializada sobre o crescimento das plantas aumentando a matéria orgânica do solo (Wahid *et al.*, 2019; Chakraborty e Akhtar, 2021).

O *Bacillus thuringiensis*, bactéria Gram positiva, aeróbia e esporuladora é amplamente conhecida por ter propriedades inseticidas, porém também é capaz de se associar a raízes de plantas, leguminosas ou não, formando nódulos, produzindo auxinas, sideróforos e solubilizando fosfato. A cepa Bt KR1, quando consorciada com *Rhizobium leguminosarum* PR1 tem sua ação na promoção de crescimento vegetal de lentilhas e ervilhas potencializada, assim como a junção desta cepa com *Bradyrhizobium japonicum*-SB1 aumenta o crescimento da parte aérea de culturas de soja, melhorando a formação de nódulos, aumentando a biomassa da raiz (Jouzani, Valijanian e Sharafi, 2017; Chakraborty e Akhtar, 2021).

O *Bacillus thuringiensis* associado ao mix de micorrizas arbusculares (*Septoglomus constrictum*, *Diversispora aunantia*, *Archaespora trappei*, *Glomus versiforme* e *Paraglomus occultum*), melhora a tolerância de *Lavandula dentata* ao estresse hídrico por meio da redução do dano oxidativo de lipídios (ácidos graxos) e aumento da formação arbuscular (Armada *et al.*, 2016).

A aplicação de biofertilizantes à base de cianobactérias apresentam resultados positivos devido, principalmente, à capacidade de fixação de nitrogênio e solubilização de fosfatos destes microrganismos, apresentar propriedades fitoestimulantes e ser capaz de aumentar a porosidade do solo e de produzir material adesivo, o que permite a formação de agregados no solo que aumentam a retenção de água. Além disso, aumentam a biomassa do solo, após a morte e decomposição, diminuem a salinidade, liberam vários tipos de fitormônios e quelam metais pesados (Chakraborty e Akhtar, 2021). Estes tipos de biofertilizante são muito utilizados nas culturas de arroz, feijão,

cevada, aveia, tomate, rabanete, algodão, cana-de-açúcar, milho, pimenta e alface (Chakraborty and Akhtar, 2021).

Quadro 4. Formulação de biofertilizantes e seus efeitos de acordo com os cultivares.

Microrganismos	Efeito	Planta	Referência
<i>Anabaena cylindrica</i>	Aumento do rendimento	<i>Triticum sp</i>	Afify <i>et al.</i> (2022)
<i>Azotobacter chroococcum</i> e <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Aumento de rendimento e de qualidade da fruta (ácido ascórbico, açúcar total, conteúdo fenólico e capacidade antioxidante)	<i>Fragaria ananassa</i> Duch. cv. Chandler	Negi <i>et al.</i> (2021)
<i>Bacillus subtilis</i>	Redução em 54% da perda de nitrogênio do solo agrícola, aumento da eficiência do uso do nitrogênio em 11,2% e aumento de 5,0% no rendimento da cultura	<i>Zea mays</i> em solo arenoso	Sun <i>et al.</i> (2020)
<i>Bradyrhizobium</i>	Maior fixação de nitrogênio e de rendimentos da cultura	<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek	Raji, Tzanakakis and Dorsch (2019)
<i>Glomus mosseae</i> e <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Aumento da altura e peso da planta, comprimento e largura das folhas, número de folhas, peso específico da folha, eficiência fotossintética, comprimento, largura e área da semente, rendimento de sementes por planta, número de sementes por flor, melhora de 50% para os dias de floração, dias para maturidade, diâmetro da flor e da cabeça, índice de colheita, teor de óleo, composição de ácidos graxos e rendimento total	<i>Helianthus annuus</i> L.	Sharma, Delta and Kaushik (2021)
<i>Klebsiella planticola</i> e <i>Enterobacter spp</i>	Aumento do rendimento	<i>Zea mays</i> e <i>Triticum sp</i>	Latkovic <i>et al.</i> (2020)
<i>Paenibacillus alvei</i> , <i>B. safensis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>Lysinibacillus sphaericus</i>	Aumento de rendimento de 33%	<i>Zea mays</i>	Breedt, Labuschagnand Coutinho (2017)
<i>Rhizobium</i>	Maiores rendimentos de sementes	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Koskey <i>et al.</i> (2017)
<i>Rhizobium</i>	Até 138% de aumento no rendimento	<i>Cicer arietinum</i> L.	Wolde <i>et al.</i> (2018)
<i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i>	Níveis de nutrientes melhorados em tubérculos	<i>Solanum tuberosum</i>	Aloo <i>et al.</i> (2020)
<i>Streptomyces aureovercillatus</i> HN6	Redução da murcha de <i>Fusarium</i> , promoção do crescimento, do número de folhas, altura e massa fresca	<i>Vigna unguiculata</i>	Wang <i>et al.</i> (2022)

7- Conclusão

Embora o uso de fertilizantes químicos possa aumentar a produtividade agrícola, ele pode ter impacto negativo na fertilidade do solo e na saúde humana. O seu uso inadequado pode causar o declínio rápido dos níveis de produção agrícola mundial, uma vez que impacta diretamente na população microbiana do solo, comprometendo sua qualidade e a qualidade dos alimentos produzidos. Todas essas alterações podem refletir também na saúde de seres humanos e animais. O uso de microrganismos promotores de crescimento nas práticas agrícolas tem se mostrado, além de econômico, um método sustentável, devido à sua capacidade de não causar contaminações e de ser uma energia renovável, preservando a fertilidade do solo, mesmo com o seu uso a longo prazo. Ainda há muito a ser pesquisado e explorado, porém os estudos estão sendo realizados e os resultados apresentados têm se mostrado muito promissores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Meftah Kadmiri, I. (2021). Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in Microbiology*, 12, 628379
- Abdel-Motaal, F., Kamel, N., El-Zayat, S., & Abou-Ellail, M. (2020). Early blight suppression and plant growth promotion potential of the endophyte *Aspergillus flavus* in tomato plant. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 117-123.
- Adedayo, A.A.; Babalola, O.O. Fungi That Promote Plant Growth in the Rhizosphere Boost Crop Growth. *J. Fungi* **2023**, 9, 239. <https://doi.org/10.3390/jof9020239>
- Adeleke, B. S., Ayangbenro, A., & Babalola, O. O. (2022). Effect of endophytic bacterium, *Stenotrophomonas maltophilia* JVB5 on sunflowers. *Plant Protection Science*, 58(3), 185-198.
- Afkhami, M. E., Almeida, B. K., Hernandez, D. J., Kieseewetter, K. N., & Revillini, D. P. (2020). *Tripartite mutualisms as models for understanding plant–microbial interactions*. *Current Opinion in Plant Biology*, 56, 28–36. doi:10.1016/j.pbi.2020.02.003
- Afzal, Imran; Zabta Khan Shinwari, Shomaila Sikandar, Shaheen Shahzad, Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants, *Microbiological Research*, Volume 221, 2019, Pages 36-49, ISSN 0944-5013, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Alves, L. P. S., do Amaral, F. P., Kim, D., Bom, M. T., Gavídia, M. P., Teixeira, C. S., ... & Stacey, G. (2019). Importance of poly-3-hydroxybutyrate metabolism to the ability of *Herbaspirillum seropedicae* to promote plant growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(6).
- Armada, E., Probanza, A., Roldán, A., & Azcón, R. (2016). Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. *Journal of plant physiology*, 192, 1-12.
- Atuchin, V. V., Asyakina, L. K., Serazetdinova, Y. R., Frolova, A. S., Velichkovich, N. S., & Prosekov, A. Y. (2023). Microorganisms for Bioremediation of Soils Contaminated with Heavy Metals. *Microorganisms*, 11(4), 864.
- Azeem, M., Javed, S., & Zahoor, A. F. (2023). *Bacillus* Species as Potential Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Drought Stress Resilience. *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(4), 59.
- Balzano, S., Sardo, A., Blasio, M., Chahine, T. B., Dell'Anno, F., Sansone, C., & Brunet, C. (2020). Microalgal metallothioneins and phytochelatins and their potential use in bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 517.
- Bavaresco, L.G., Osco, L.P., Araujo, A.S.F. et al (2020) *Bacillus subtilis* can modulate the growth and root architecture in soybean through volatile organic compounds. *Theor Exp Plant Physiol.* 32:99-108.

Beretta, G.M., Deere, J.A., Messelink, G.J. *et al.* Review: predatory soil mites as biocontrol agents of above- and below-ground plant pests. *Exp Appl Acarol* 87, 143-162 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10493-022-00723-w>

Bhattacharjee, S., Chakraborty, T., & Bhaumik, A. (2022). A Ce-MOF as an alkaline phosphatase mimic: Ce-OH 2 sites in catalytic dephosphorylation. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 9(22), 5735-5744.

Bouizgarne, B. (2022). Phosphate-solubilizing actinomycetes as biofertilizers and biopesticides: bioformulations for sustainable agriculture. In *Microbial BioTechnology for Sustainable Agriculture Volume 1* (pp. 407-428). Singapore: Springer Nature Singapore.

Cai, Wang, X., Bhadra, S., & Gao, Q. (2020). Distinct factors drive the assembly of quinoa-associated microbiomes along elevation. *Plant and Soil*, 448(1-2), 55-69. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04387-1>

Cancé, C., Martin-Arevalillo, R., Boubekour, K., & Dumas, R. (2022). Auxin response factors are keys to the many auxin doors. *New Phytologist*, 235(2), 402-419.

Caracciolo, A.B, & Terenzi, V. (2021). Rhizosphere microbial communities and heavy metals. *Microorganisms*, 9(7), 1462.

Chaiharn, M., Theantana, T., & Pathom-Aree, W. (2020). Evaluation of biocontrol activities of *Streptomyces* spp. against rice blast disease fungi. *Pathogens*, 9(2), 126.

Chakraborty, T., & Akhtar, N. (2021). Biofertilizers: characteristic features and applications. *Biofertilizers: Study and Impact*, 429-489.

Chandrasekaran, M., Paramasivan, M., & Sahayarayan, J. J. (2022). Microbial volatile organic compounds: An alternative for chemical fertilizers in sustainable agriculture development. *Microorganisms*, 11(1), 42.

Chittora, D., Meena, M., Barupal, T., Swapnil, P., & Sharma, K. (2020). Cyanobacteria as a source of biofertilizers for sustainable agriculture. *Biochemistry and biophysics reports*, 22, 100737.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 420/2009. Disponível em < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm.htm> > Acesso em 20 de maio de 2023.

Corwin, D. L. (2020). *Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas. European Journal of Soil Science.* doi:10.1111/ejss.13010

Cumpa-Velásquez, L. M., Moriconi, J. I., Dip, D. P., Castagno, L. N., Puig, M. L., Maiale, S. J., & Estrella, M. J. (2021). Prospecting phosphate solubilizing bacteria in alkaline-sodic environments reveals intra-specific variability in *Pantoea eucalypti* affecting nutrient acquisition and rhizobial nodulation in *Lotus tenuis*. *Applied Soil Ecology*, 168, 104125.

de OLIVEIRA, M. M., Salvador, M. G., de OLIVEIRA, M. A. R., PRIMO, W. D. O., FERREIRA, E. D. B., DE OLIVEIRA, M. M.,..... & FERREIRA, E. P. D. B. (2021). Coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* na fase fenológica V2-V3 do feijoeiro-comum.

- Dias, T., Pimentel, V., Cogo, A. J. D., Costa, R., Bertolazi, A. A., Miranda, C.,... & Cruz, C. (2020). The free-living stage growth conditions of the endophytic fungus *Serendipita indica* may regulate its potential as plant growth promoting microbe. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 562238.
- Dotson, B.R., Verschut, V., Flärdh, K., et al (2020) The *Streptomyces* volatile 3-octanone alters auxin/cytokinin and growth in *Arabidopsis thaliana* via the gene family KISS ME DEADLY. *bioRxiv*
- Du, J., Ji, Y., Li, Y., Liu, B., Yu, Y., Chen, D.,....& Ding, X. (2022). Microbial volatile organic compounds 2-heptanol and acetoin control *Fusarium* crown and root rot of tomato. *Journal of Cellular Physiology*.
- Elhaissofi, W., Ghoulam, C., Barakat, A., Zeroual, Y., & Bargaz, A. (2022). Phosphate bacterial solubilization: A key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. *Journal of Advanced Research*, *38*, 13-28.
- Ellis, E.C.; Beusen, A.H.W.; Goldewijk, K.K. Anthropogenic Biomes: 10,000 BCE to 2015 CE. *Land* **2020**, *9*, 129. <https://doi.org/10.3390/land9050129>
- Fernandez-Zarate, F. H., Huaccha-Castillo, A. E., Quiñones-Huatangari, L., Vaca-Marquina, S. P., Sanchez-Santillan, T., Morales-Rojas, E., ... & Coronel-Bustamante, D. (2022). Effect of arbuscular mycorrhiza on germination and initial growth of *Cinchona officinalis* L.(Rubiaceae). *Forest Science and Technology*, *18*(4), 182-189.
- Ferreira, M. J., Silva, H., & Cunha, A. (2019). Siderophore-producing rhizobacteria as a promising tool for empowering plants to cope with iron limitation in saline soils: A review. *Pedosphere*, *29*(4), 409-420.
- Flores-Félix, J. D., Velázquez, E., Martínez-Molina, E., González-Andrés, F., Squartini, A., & Rivas, R. (2021). Connecting the lab and the field: Genome analysis of phyllobacterium and rhizobium strains and field performance on two vegetable crops. *Agronomy*, *11*(6), 1124.
- Fragkostefanakis, S., Mesihovic, A., Simm, S., Paupière, M. J., Hu, Y., Paul, P., & Scharf, K. D. (2016). HsfA2 controls the activity of developmentally and stress-regulated heat stress protection mechanisms in tomato male reproductive tissues. *Plant physiology*, *170*(4), 2461-2477.
- Fraser, E. D., & Campbell, M. (2019). Agriculture 5.0: reconciling production with planetary health. *One Earth*, *1*(3), 278-280.
- Ganugi, P.; Masoni, A.; Pietramellara, G.; Benedettelli, S. A Review of Studies from the Last Twenty Years on Plant-Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associations and Their Uses for Wheat Crops. *Agronomy* **2019**, *9*, 840. <https://doi.org/10.3390/agronomy9120840>
- Gao, X. H., Xiao, S. L., Yao, Q. F., Wang, Y. J., & Fu, X. D. (2011). An updated GA signaling 'relief of repression' regulatory model. *Molecular Plant*, *4*(4), 601-606.
- Garg, G., Kumar, S., & Bhati, S. (2021). Siderophore in plant nutritional management: role of endophytic bacteria. *Endophytes: Mineral Nutrient Management, Volume 3*, 315-329.

- Ghosh, S. K., Bera, T., & Chakrabarty, A. M. (2020). *Microbial siderophore- a boon to agricultural sciences. Biological Control, 104*214. doi:10.1016/j.biocontrol.2020.10
- Giannakoula, A., Therios, I., & Chatzissavvidis, C. (2021). *Effect of Lead and Copper on Photosynthetic Apparatus in Citrus (Citrus aurantium L.) Plants. The Role of Antioxidants in Oxidative Damage as a Response to Heavy Metal Stress. Plants, 10*(1), 155. doi:10.3390/plants10010155
- Gomes, G. L. B., & Scortecci, K. C. (2021). Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms. *Plant Biology, 23*(6), 894-904.
- Gómez Santiesteban, E., Guevara Verdecia, Y., San Juan Rodríguez, A. N., Lemes Rodríguez, T., Pérez Rodríguez, M., & Cutiño, Y. (2019). Effect of NITROFIX® on radical development in three sugarcane varieties. *Centro Agrícola, 46*(4), 61-64.
- González-Benítez, N., Martín-Rodríguez, I., Cuesta, I., Arrayás, M., White, J. F., & Molina, M. C. (2021). Endophytic microbes are tools to increase tolerance in Jasione plants against arsenic stress. *Frontiers in Microbiology, 12*, 664271.
- Gowdy, J. (2020). Our Hunter-Gatherer Future: Climate Change, Agriculture and Uncivilization. *Futures, 102*488. doi:10.1016/j.futures.2019.102488
- Grobelak, A., & Hiller, J. (2017). Bacterial siderophores promote plant growth: Screening of catechol and hydroxamate siderophores. *International journal of phytoremediation, 19*(9), 825-833.
- Hamayun, M., Hussain, A., Iqbal, A., Khan, S. A., Khan, M. A., & Lee, I. J. (2021). An Endophytic Fungus Gliocladium cibotii Regulates Metabolic and Antioxidant System of Glycine max and Helianthus annuus under Heat Stress. *Polish Journal of Environmental Studies, 30*(2).
- Harman, Gary E., and Norman Uphoff. "Symbiotic root-endophytic soil microbes improve crop productivity and provide environmental benefits." *Scientifica* 2019 (2019).
- Harwood, C. S. (2020). Iron-only and vanadium nitrogenases: fail-safe enzymes or something more?. *Annual Review of Microbiology, 74*, 247-266.
- Hedden, P. (2020). The current status of research on gibberellin biosynthesis. *Plant and Cell Physiology, 61*(11), 1832-1849.
- Hernández-García, J., Briones-Moreno, A., & Blázquez, M. A. (2021, January). Origin and evolution of gibberellin signaling and metabolism in plants. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 109, pp. 46-54). Academic Press.
- Holden, V. I., & Bachman, M. A. (2015). Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics, 7*(6), 986-995.
- Hong, C. P., Kim, J., Lee, J., Yoo, S. I., Bae, W., Geem, K. R., & Ryu, H. (2021). Gibberellin signaling promotes the secondary growth of storage roots in Panax ginseng. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(16), 8694.

Hussain, S., Shaukat, M., Ashraf, M., Zhu, C., Jin, Q., & Zhang, J. (2019). Salinity stress in arid and semi-arid climates: Effects and management in field crops. *Climate change and agriculture*, 13.

Igiehon, Nicholas O.; Olubukola O. Babalola, Xavier Cheseto, Baldwyn Torto, Effects of rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi on yield, size distribution and fatty acid of soybean seeds grown under drought stress, *Microbiological Research*, Volume 242, 2021, 126640, ISSN 0944-5013, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126640>

Ingle, K. P., & Padole, D. A. (2017). Phosphate solubilizing microbes: An overview. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1), 844-852.

IPCC, 2023: Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2023: Synthesis Report. A Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 36 pages. (in press).

Jaitieng, S., Sinma, K., Rungcharoenthong, P., & Amkha, S. (2021). Arbuscular mycorrhiza fungi applications and rock phosphate fertilizers enhance available phosphorus in soil and promote plant immunity in robusta coffee. *Soil Science and Plant Nutrition*, 67(1), 97-101.

Jouzani, G. S., Valijanian, E., & Sharafi, R. (2017). *Bacillus thuringiensis*: a successful insecticide with new environmental features and tidings. *Applied microbiology and biotechnology*, 101, 2691-2711.

Kang, S. M., Adhikari, A., Lee, K. E., Khan, M. A., Khan, A. L., Shahzad, R., ... & Lee, I. J. (2020). Inoculation with Indole-3-acetic acid-producing rhizospheric *Rhodobacter sphaeroides* KE149 augments growth of adzuki bean plants under water stress. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 717.

Kaur, S., Samota, M. K., Choudhary, M., Choudhary, M., Pandey, A. K., Sharma, A., & Thakur, J. (2022). How do plants defend themselves against pathogens-Biochemical mechanisms and genetic interventions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(2), 485-504.

Kazerooni, E. A., Maharachchikumbura, S. S., Al-Sadi, A. M., Rashid, U., Kang, S. M., & Lee, I. J. (2022). *Actinomucor elegans* and *podospora bulbillosa* positively improves endurance to water deficit and Salinity Stresses in tomato plants. *Journal of Fungi*, 8(8), 785.

Khullar, S., & Reddy, M. S. (2019). Ectomycorrhizal diversity and tree sustainability. *Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications: Volume 2. Soil & Agroecosystems*, 145-166.

Kidwai, M.K., Dhull, S.B. (2021). Heavy Metals Induced Stress and Metabolic Responses in Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Plants. In: Naeem, M., Aftab, T., Khan, M.M.A. (eds) Fenugreek. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-1197-1_15

Kooza, N.A.; Adedayo, A.A.; Babalola, O.O.; Kappo, A.P. Microorganisms in Plant Growth and Development: Roles in Abiotic Stress Tolerance and Secondary

Metabolites Secretion. *Microorganisms* 2022, 10, 1528. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081528>

Kotoky, R., Nath, S., Kumar Maheshwari, D., & Pandey, P. (2019). Cadmium resistant plant growth promoting rhizobacteria *Serratia marcescens* S217 associated with the growth promotion of rice plant. *Environmental Sustainability*, 2, 135-144.

Kravchenko, L. V.; Azarova, T. S.; Makarova, N. M. y Tikhonovich, I. A. 2004. "The Effect of Tryptophan Present in Plant Root Exudates on the Phytostimulating Activity of Rhizobacteria". *Microbiology*, vol. 73, no. 2, marzo de 2004, pp. 156- 158, ISSN 0026-2617, 1608-3237, DOI10.1023/B: MICI. 0000023982.76684.9d.

Kundu, K., Teta, R., Esposito, G., Stornaiuolo, M., & Costantino, V. (2023). A Four- Step Platform to Optimize Growth Conditions for High-Yield Production of Siderophores in Cyanobacteria. *Metabolites*, 13(2), 154.

Li, G. E., Kong, W. L., Wu, X. Q., & Ma, S. B. (2021). Phytase-producing *Rahnella aquatilis* JZ-GX1 promotes seed germination and growth in corn (*Zea mays* L.). *Microorganisms*, 9(8), 1647.

Li, Q., Feng, T., Li, H., Wang, Z., Wei, X., & Liu, J. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using endophytic bacterium *Bacillus zanthoxyli* GBE11 and their antimicrobial activity. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-13.

Li, X., Peng, D., Zhang, Y., Ju, D., & Guan, C. (2020). *Klebsiella* sp. PD3, a phenanthrene (PHE)-degrading strain with plant growth promoting properties enhances the PHE degradation and stress tolerance in rice plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110804.

Long, T., Chen, H., Leipe, C., Wagner, M., & Tarasov, P. E. (2022). Modelling the chronology and dynamics of the spread of Asian rice from ca. 8000 BCE to 1000CE. *Quaternary International*, 623, 101-109.

Ma, Xinwei; Zhao Su, Hong Ma, Molecular genetic analyses of abiotic stress responses during plant reproductive development, *Journal of Experimental Botany*, Volume 71, Issue 10, 30 May 2020, Pages 2870-2885, <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa089>

Malyan, S. K., Singh, S., Bachheti, A., Chahar, M., Sah, M. K., Kumar, A.,.....& Kumar, S. S. (2020). Cyanobacteria: a perspective paradigm for agriculture and environment. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 215-224). Elsevier.

Mastrocicco, M., Gervasio, M. P., Busico, G., & Colombani, N. (2021). Natural and anthropogenic factors driving groundwater resources salinization for agriculture use in the Campania plains (Southern Italy). *Science of the Total Environment*, 758, 144033.

Matsumura, A. T. S., Matsumura, A. S., Silva, M. H., Ribas, A. D., Grassotti, T. T., & Matsumura, A. S. ICB Nutrisolo Trichoderma® as growth promoter in soybean crops. *Scientia Agraria Paranaensis*, 2021, 219-224.

- Meyer, Maurício Conrado, Adeney de Freitas Bueno e Sérgio Miguel Mazaro .Bioinsumos na cultura da soja / Maurício Conrado Meyer... [et al.] editores técnicos - - Brasília, DF: Embrapa, 2022. 550 p.
- Miryeganeh, M. (2021). Plants' Epigenetic Mechanisms and Abiotic Stress. *Genes*, 12(8), 1106. doi:10.3390/genes12081106
- Mohajan, Haradhan (2019): The First Industrial Revolution: Creation of a New Global Human Era. Published in: *Journal of Social Sciences and Humanities* , Vol. 5, No. 4 (17 October 2019): pp. 377-387
- Mohammadi MA, Cheng Y, Aslam M, Jakada BH, Wai MH, Ye K, He X, Luo T, Ye L, Dong C, Hu B, Priyadarshani SVGN, Wang-Pruski G and Qin Y (2021) ROS and Oxidative Response Systems in Plants Under Biotic and Abiotic Stresses: Revisiting the Crucial Role of Phosphite Triggered Plants Defense Response. *Front. Microbiol.* 12:631318. doi: 10.3389/fmicb.2021.631318
- Mohan, I., Gorla, K., Dhar, S., Kothari, R., Bhau, B. S., & Pathania, D. (2021). Phytoremediation of heavy metals from the biosphere perspective and solutions. *Pollutants and water management: Resources, strategies and scarcity*, 95- 127.
- Monowar, T., Rahman, M. S., Bhore, S. J., & Sathasivam, K. V. (2021). Endophytic bacteria *Enterobacter hormaechei* fabricated silver nanoparticles and their antimicrobial activity. *Pharmaceutics*, 13(4), 511.
- Morris, B. The components of the Wired Spanning Forest are recurrent. *Probab Theory Relat Fields* 125, 259-265 (2003). <https://doi.org/10.1007/s00440-002-0236-0>
- Muindi, E. M. (2019). Understanding soil phosphorus. *International Journal of Plant & Soil Science*, 31(2), 1-18.
- Mukherjee, A., Gaurav, A. K., Singh, S., Yadav, S., Bhowmick, S., Abeysinghe, S., & Verma, J. P. (2022). The bioactive potential of phytohormones: A review. *Biotechnology Reports*, e00748.
- Mumtaz, M. Z., Ahmad, M., Etesami, H., & Mustafa, A. (2023). Mineral solubilizing microorganisms (MSM) and their applications in nutrient availability, weathering and bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1101426.
- Murali, M., Naziya, B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., AlYahya, S., Almatroudi, A., ... Amruthesh, K. N. (2021). *Bioprospecting of Rhizosphere-Resident Fungi: Their Role and Importance in Sustainable Agriculture*. *Journal of Fungi*, 7(4), 314. doi:10.3390/jof7040314
- Nwokolo, N. L., Enebe, M. C., Chigor, C. B., Chigor, V. N., & Dada, O. A. (2021). *The contributions of biotic lines of defence to improving plant disease suppression in soils: A review*. *Rhizosphere*, 19, 100372. doi:10.1016/j.rhisph.2021.100372
- Ojuederie, O. B., & Babalola, O. O. (2017). Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: a review. *International journal of environmental research and public health*, 14(12), 1504.

Olmo, R., Wetzels, S. U., Armanhi, J. S. L., Arruda, P., Berg, G., Cernava, T.,.... & Wagner, M. (2022). Microbiome research as an effective driver of success stories in agrifood systems-a selection of case studies. *Frontiers in microbiology*, 2190.

ONU - Organização das Nações Unidas. Global Issues - Population 2022. Disponível em: <<https://www.un.org/en/global-issues/population>> Acesso em 28 de março de 2023.

Oshchepkov, M. S., Kalistratova, A. V., Savelieva, E. M., Romanov, G. A., Bystrova, N. A., & Kochetkov, K. A. (2020). Natural and synthetic cytokinins and their applications in biotechnology, agrochemistry and medicine. *Russian Chemical Reviews*, 89(8), 787.

Ozimek, E., & Hanaka, A. (2020). Mortierella species as the plant growth-promoting fungi present in the agricultural soils. *Agriculture*, 11(1), 7.

Pacios-Michelena S, Aguilar González CN, Alvarez-Perez OB, Rodriguez-Herrera R, Chávez-González M, Arredondo Valdés R, Ascacio Valdés JA, Govea Salas M and Ilyina A (2021) Application of Streptomyces Antimicrobial Compounds for the Control of Phytopathogens. *Front. Sustain. Food Syst.* 5:696518. doi: 10.3389/fsufs.2021.696518

Panigrahi, S., Mohanty, S., & Rath, C. C. (2020). Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 isolated from *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. *South African Journal of Botany*, 134, 17-26.

Patel, M., Surti, M., Ashraf, S. A., & Adnan, M. (2021). Physiological and Molecular Responses to Heavy Metal Stresses in Plants. *Harsh Environment and Plant Resilience: Molecular and Functional Aspects*, 171-202.

Pérez-de-Luque, Alejandro & Tille, Stefanie & Johnson, Irene & Pascual-Pardo, David & Ton, Jurriaan & Cameron, Duncan. (2017). The interactive effects of arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting rhizobacteria synergistically enhance host plant defences against pathogen. *Scientific Reports*. 7. 16409. 10.1038/s41598-017- 16697-4.

Petrasek, J., Hoyerova, K., Motyka, V., Hejatko, J., Dobrev, P., Kaminek, M., & Vankova, R. (2019). Auxins and cytokinins in plant development 2018.

Piao, S., Liu, Q., Chen, A., Janssens, I. A., Fu, Y., Dai, J.,....& Zhu, X. (2019). Plant phenology and global climate change: Current progresses and challenges. *Global change biology*, 25(6), 1922-1940.

Poveda, J. (2021). Beneficial effects of microbial volatile organic compounds (MVOCs) in plants. *Applied Soil Ecology*, 168, 104118.

Prasanna, R., Renuka, N., Nain, L., & Ramakrishnan, B. (2021). Natural and constructed cyanobacteria-based consortia for enhancing crop growth and soil fertility. *Role of Microbial Communities for Sustainability*, 333-362.

Prazdnova, E. V., Gorovtsov, A. V., Vasilchenko, N. G., Kulikov, M. P., Statsenko, V. N., Bogdanova, A. A., ... & Chikindas, M. L. (2022). Quorum-sensing inhibition by Gram-positive bacteria. *Microorganisms*, 10(2), 350.

- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. (2020). Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21, 49-68.
- Rodríguez Coca, L. I., García González, M. T., Gil Unday, Z., Jiménez Hernández, J., Rodríguez Jáuregui, M. M., & Fernández Cancio, Y. (2023). Effects of Sodium Salinity on Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivation: A Review. *Sustainability*, 15(3), 1804
- Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, A. R. A. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*, 182(2), 314-330.
- Said, I., Salman, S. A., & Elnazer, A. A. (2021). Salinization of groundwater during 20 years of agricultural irrigation, Luxor, Egypt. *Environmental Geochemistry and Health*, 1-15.
- Sawicka, Barbara; Chukwuebuka Egbuna, Chapter 1 - Pests of Agricultural Crops and Control Measures, Editor(s): Chukwuebuka Egbuna, Barbara Sawicka, Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control, Academic Press, 2020, Pages 1-16, ISBN 9780128193044, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819304-4.00001-4>.
- Schaal, B. (2019). Plants and people: Our shared history and future. *PLANTS, PEOPLE, PLANET*, 1(1), 14-19. doi:10.1002/ppp3.12
- Schalk, I. J., & Guillon, L. (2013). Fate of ferrisiderophores after import across bacterial outer membranes: different iron release strategies are observed in the cytoplasm or periplasm depending on the siderophore pathways. *Amino Acids*, 44(5), 1267–1277. doi:10.1007/s00726-013-1468-2
- Seenivasagan, R., & Babalola, O. O. (2021). Utilization of microbial consortia as biofertilizers and biopesticides for the production of feasible agricultural product. *Biology*, 10(11), 1111.
- Silva, G. D. C., Kitano, I. T., Ribeiro, I. A. D. F., & Lacava, P. T. (2022). The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture. *Frontiers in Soil Science*, 2.
- Singh, A., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Deepika, Tiwari, S., Dwivedi, A., & Dubey, N. K. (2020). *Biological Control of Plant Diseases: Opportunities and Limitations*. *Plant Microbiome Paradigm*, 121–146. doi:10.1007/978-3-030-50395-6_7.
- Songachan, L. S. The Usage of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Amf) as a Biofertilizer. 2023.
- Soong, J. L., Fuchslueger, L., Maraño-Jimenez, S., Torn, M. S., Janssens, I. A., Penuelas, J., & Richter, A. (2020). Microbial carbon limitation: The need for integrating microorganisms into our understanding of ecosystem carbon cycling. *Global Change Biology*, 26(4), 1953-1961. doi:10.1111/gcb.14962
- Soumare, A., Diedhiou, A. G., Thuita, M., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Gopalakrishnan, S., & Kouisni, L. (2020). Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. *Plants*, 9(8), 1011.

Sriram, S., Patel, P. S., Rao, D. V. S., & Shivashankara, K. S. (2023). Volatile Organic Compounds Produced by Microbes in the Management of Postharvest Diseases of Fruits.

Stamatov, S., & Velcheva, N. (2020). Effect of Leaf Fertilizers and Biostimulators on Productivity of Wheat and Sunflower. *New knowledge Journal of science*, 9(1), 101-107.

Strange, R. W. (2022). Metalloproteins and systems of biological relevance.

Sultana, S., Alam, S., & Karim, M. M. (2021). Screening of siderophore-producing salt-tolerant rhizobacteria suitable for supporting plant growth in saline soils with iron limitation. *Journal of Agriculture and Food Research*, 4, 100150.

Sun, X., Liu, F., Jiang, W., Zhang, P., Zhao, Z., Liu, X., & Sun, Q. (2023). *Talaromyces purpurogenus* Isolated from Rhizosphere Soil of Maize Has Efficient Organic Phosphate-Mineralizing and Plant Growth-Promoting Abilities. *Sustainability*, 15(7), 5961.

Tanțău, Ioan, Roxana Grindean, and Enikő K. Magyari. "Vegetation History and Human Impact in the Ciomadul Area During the Holocene." *Ciomadul (Csomád), The Youngest Volcano in the Carpathians: Volcanism, Palaeoenvironment, Human Impact*. Cham: Springer International Publishing, 2022 175-185.

Tripathi, S., & Poluri, K. M. (2021). Metallothionein-and phytochelatin-assisted mechanism of heavy metal detoxification in microalgae. *Approaches to the Remediation of Inorganic Pollutants*, 323-344.

Tudi, M.; Daniel Ruan, H.; Wang, L.; Lyu, J.; Sadler, R.; Connell, D.; Chu, C.; Phung, D.T. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2021, 18, 1112.
<https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>

Uzma, M., Iqbal, A., & Hasnain, S. (2022). Drought tolerance induction and growth promotion by indole acetic acid producing *Pseudomonas aeruginosa* in *Vigna radiata*. *PloS one*, 17(2), e0262932.

Verma, A., Shameem, N., Jatav, H. S., Sathyanarayana, E., Parray, J. A., Poczai, P., & Sayyed, R. Z. (2022). Fungal endophytes to combat biotic and abiotic stresses for climate-smart and sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, 13, 953836.

Verma, S.K. ; P.K. Sahu, K. Kumar, G. Pal, S.K. Gond, R.N. Kharwar, J.F. White, Endophyte roles in nutrient acquisition, root system architecture development and oxidative stress tolerance, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 131, Issue 5, 1 November 2021, Pages 2161-2177, <https://doi.org/10.1111/jam.15111>

Vocciante, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G., & Franchi, E. (2022). The role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses. *Applied Sciences*, 12(3), 1231.

Wahid, F., Sharif, M., Fahad, S., Adnan, M., Khan, I. A., Aksoy, E., ... & Khan, N. A. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and phosphorus uptake of

mung bean plants fertilized with composted rock phosphate fed dung in alkaline soil environment. *Journal of Plant Nutrition*, 42(15), 1760-1769.

Woźniak, M.; Gałązka, A.; Tyśkiewicz, R.; Jaroszek-Ścisł, J. Endophytic Bacteria Potentially Promote Plant Growth by Synthesizing Different Metabolites and their Phenotypic/Physiological Profiles in the Biolog GEN III MicroPlate™ Test. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 5283. <https://doi.org/10.3390/ijms20215283>

Wu W, Chen W, Liu S, Wu J, Zhu Y, Qin L and Zhu B (2021a) Beneficial Relationships Between Endophytic Bacteria and Medicinal Plants. *Front. Plant Sci.* 12:646146. doi: 10.3389/fpls.2021.646146

Wu, W., Du, K., Kang, X., & Wei, H. (2021b). The diverse roles of cytokinins in regulating leaf development. *Horticulture Research*, 8.

Xiong, Q., Hu, J., Wei, H., Zhang, H., & Zhu, J. (2021). Relationship between plant roots, rhizosphere microorganisms, and nitrogen and its special focus on rice. *Agriculture*, 11(3), 234.

You, J., Li, G., Li, C., Zhu, L., Yang, H., Song, R., & Gu, W. (2022). Biological control and plant growth promotion by volatile organic compounds of *Trichoderma koningiopsis* T-51. *Journal of Fungi*, 8(2), 131.

Zhao, X., Ni, Y., Zhao, H., Liu, X., He, B., Shi, B., ... & Liu, H. (2021). Plant growth-promoting ability and control efficacy of *Penicillium aurantiogriseum* 44M-3 against sesame *Fusarium* wilt disease. *Biocontrol Science and Technology*, 31(12), 1314-1329.

Zhu, J., & Wakisaka, M. (2020). Finding of phytase: Understanding growth promotion mechanism of phytic acid to freshwater microalga *Euglena gracilis*. *Bioresource technology*, 296, 122343.

Zhu, J.-K. (2016). *Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants*. *Cell*, 167(2), 313–324. doi:10.1016/j.cell.2016.08.029

CAPÍTULO 2

Prospecção de Bactérias Provenientes de Solo de Restinga com Potencial para a Promoção de Crescimento Vegetal

(Norma de citação de estruturação seguida de acordo com a revista “Applied Microbiology and Biotechnology”, Springer)

1- Introdução

A Restinga é um ecossistema de Mata Atlântica caracterizado pela presença de altas temperaturas, salinidade (devido à influência marinha e flúvio-marinha), solo arenoso, relevo plano, com formações de praias, dunas e lagoas. A altitude varia de 0 a 50m acima do nível do mar e sua vegetação se apresenta em forma de mosaicos, com plantas variando de rasteiras até árvores de grande porte (Talora e Morellato, 2000; Embrapa, 2018; Mendes *et al.*, 2021). Os solos das regiões de Restinga são arenosos, denominados Neossolos Quartzarênicos e, devido à especulação imobiliária e turística, a Restinga vem sofrendo um processo de degradação constante, restando poucas áreas em estado original (Embrapa, 2018; Borges *et al.*, 2018; Mendes *et al.*, 2021).

Por possuir composição arenosa, o que dificulta o acúmulo de água, baixo teor de nutrientes na sua composição, além da alta salinidade e forte presença de insolação, este ambiente exerce uma forte pressão de seleção sobre os organismos presentes, sejam eles plantas, animais ou microrganismos (Alsharif, Saad e Hirt, 2020; Abdul Rahman, Abdul Hamid e Nadarajah, 2021; Ayangbenro e Babalola, 2021). Dessa forma, microrganismos residentes em ambientes de alta pressão abiótica são capazes de utilizar recursos para a aquisição de nutrientes (Carbono, Nitrogênio e Fósforo) com uma frequência maior do que o uso de recursos para o crescimento, desempenhando um papel fundamental no ecossistema (Santoyo *et al.*, 2017; Ayangbenro e Babalola, 2021).

Pinto *et al.* (2020) avaliaram, por meio de PCR-DGGE, a microbiota do solo de uma região de Restinga onde houve introdução de Pinus (*Pinus elliottii*), uma árvore exótica capaz de contribuir para o desequilíbrio ambiental, confirmou o grande efeito

deletério tanto sobre a comunidade bacteriana, quanto a fúngica. Segundo Pupin e Nahas (2014), uma característica importante dos solos de Restinga é a baixa concentração de oxigênio, principalmente nas camadas mais profundas, uma vez que podem ocorrer inundações ocasionais, devido às variações de marés, o que influencia positivamente sobre as comunidades de bactérias desnitrificantes e assimiladoras de nitrogênio.

Atualmente uma das maiores ameaças à agricultura e ao ambiente é o processo de desertificação que é uma consequência da associação entre as mudanças climáticas e as influências antrópicas, principalmente em áreas de maior aridez e regiões semi-úmidas, podendo impactar diretamente a segurança econômica e social das regiões afetadas (Gao *et al.*, 2019; Ayangbenro e Babalola, 2021). Salinidade, estresse hídrico e altas temperaturas causam impactos sobre o microbioma do solo e suas consequências sobre as plantas vêm sendo objeto de vários estudos, uma vez que representam um dos maiores desafios da atualidade na agricultura devido às limitações no desenvolvimento das safras (Balestrini *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019; Mahmood *et al.*, 2020).

O estresse salino por si só, seja ele de origem natural ou antropogênica, pode causar alterações osmóticas levando a processos de toxicidade dos organismos residentes, pois permite o favorecimento de alguns elementos químicos em detrimento de outros, alterando a qualidade das águas subterrâneas e influenciando diretamente no desenvolvimentos das plantas nesse solo (Ma, Su e Ma, 2020; Yildiz *et al.*, 2020).

Alterações nos teores de matéria orgânica do solo provocam impactos direto na fertilidade e biodiversidade de plantas e de microrganismos, portanto as modificações dentro de uma comunidade microbiana são importantes indicadores do estado de degradação do solo (Zhou, Wang e Luo, 2017; Liu *et al.*, 2020).

As interações microrganismo-planta são afetadas diretamente por alterações ambientais, tanto de forma positiva como de forma negativa (Schirawski aend Perlin, 2017; Cheng, Zhang e He, 2019). Um exemplo disto é a *Pseudomonas putida* GR12-2, definida como uma bactéria promotora de crescimento vegetal capaz de produzir 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase (ACCD) que, sob condições de estresse, diminui os efeitos deletérios do etileno produzido pelas plantas. Porém, estamesma cepa, quando infectando algumas espécies de plantas, como kiwi (*Actinidia*

deliciosa) pode causar doenças (Schirawski e Perlin, 2017; Naing, Maung and Kim, 2021). Desta forma, análises filogenéticas indicaram a proximidade desta cepa com o complexo *Pseudomonas syringae*, um conhecido fitopatógeno causador do cancro em mais de 50 espécies de plantas, tendo sido recomendada a sua reclassificação (Naing, Maung e Kim, 2021). No entanto, de forma geral, a presença de microrganismos simbiossiontes pode diminuir ou até neutralizar os efeitos estressores ambientais nas plantas, aumentando sua tolerância e permitindo um melhor desenvolvimento, porém se atentando aos riscos da introdução de um novo microrganismo no ambiente (Naing, Maung e Kim, 2021; Timmis e Ramos, 2021; Bastías *et al.*, 2022; Voccianti *et al.*, 2022).

Com o reconhecimento da importância do microrganismo no cultivo de plantas, vem se tornando cada vez mais comum o uso de bioinoculantes e, se estes forem adaptados aos estressores existentes, as chances de sucesso aumentam consideravelmente (Ramakrishna, Yadav and Li, 2019; de Souza, Armanhi and Arruda, 2020; Magallon-Servin *et al.*, 2020). Os biofertilizantes podem ser compostos por vários tipos diferentes de microrganismos que exibam características de serem promotores de crescimento em plantas, auxiliando na absorção de nutrientes, na biossíntese de hormônios, produzindo enzimas que interferem com os níveis de tolerâncias das plantas aos estressores ambientais e inibindo a ação de fitopatógenos (Santos, Nogueira e Hungria, 2019; Ramakrishna *et al.*, 2019; Magallon-Servin *et al.*, 2020).

Atualmente, quase 11% da área de solo do planeta foi transformada em área de agricultura (FAO, 2017; Raven e Wagner, 2021). Calcula-se que, no mundo, mais de 830 milhões de hectares de terras aráveis estejam sendo afetadas pela salinização (Zhang *et al.*, 2019). No Brasil, 30% dos 500.000ha de área irrigada no Nordeste estão em processo de salinização (da Silva *et al.*, 2020; Pessoa *et al.*, 2022), sendo que estudos alertam, que até 2050, ocorrerá um decréscimo na oferta de água para a agricultura, enquanto que, no mesmo período, haverá um crescente aumento da demanda por áreas cultiváveis (Boretti e Rosa, 2019; Gupta, Rico-Medina e Caño-Delgado, 2020). A seca ou mesmo a diminuição da oferta de água, é suficiente para afetar profundamente o desenvolvimento de uma safra, talvez sendo o fator de stress abiótico mais impactante, reduzindo a disponibilidade de nutrientes no solo (Eslamian e Eslamian, 2017; Kour *et al.*, 2020; Mahmood *et al.*, 2020).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a existência de microrganismos no solo de restinga, adaptados às condições extremas de temperatura, salinidade e baixo teor de nutrientes capazes de promover crescimento das plantas com potencial biotecnológico e de biorremediação; e se a influência antrópica sobre a região de restinga contribui para a seleção de microrganismos melhor adaptados às pressões ambientais.

2- Materiais e Métodos

2.1- Área de estudo e amostragem

Os locais de amostragem foram definidos em uma área conservada e uma degradada por ação extração ilegal de areia (antropizada) do Parque Estadual Paulo Cesar Vinha (PEPCV), localizado no Município de Guarapari, Espírito Santo, Brasil (Figura 1). O PEPCV está inserido em uma Área de Proteção Ambiental, que funciona como zona de amortecimento de impactos. Na área conservada foram definidos dois pontos de coleta, sendo um ponto sem cobertura vegetal (-20.555730° -40.400350°) e outro com cobertura vegetal (Figura 2), isto é, solo rizosférico (-20.555740° - 40.400260°). Na área degradada também foram definidos dois pontos de coleta, sendo um ponto sem cobertura vegetal (-20.557030° -40.405380°) e o outro com cobertura vegetal (Figura 3), isto é, solo rizosférico (DR) (-20.556955° -40.405284°).



Figura 1: Foto aérea parcial do PEPCV. Marcados com pontos azuis as áreas de coletas da região conservada do parque. Marcados em vermelho, as áreas de coletas da região degradada do parque.



Figura 2: Foto da região conservada do PEPCV (A). Na seta verde, a formação arbustiva onde foram realizadas as coletas de solo rizosférico. Foto da região degradada do PEPCV (B). Na seta vermelha, a formação arbustiva onde foram realizadas as coletas de solo rizosférico.

As coletas foram realizadas por meio do uso de sondas de PVC (0 – 20 cm) fincadas manualmente, em triplicata, com a retirada de cerca de 200g de solo de cada ponto amostral.

As amostras foram imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia da Universidade Vila Velha - UVV, sob refrigeração, onde foram pesadas e diluídas na proporção de 1:10 em solução salina 0,85%. Em seguida, para dissolução dos grânulos e homogeneização, as amostras permaneceram sob agitação (180rpm), a 30°C por 30 minutos. Em seguida foi dada sequência na diluição seriada (Grantina-levina *et al.*, 2011).

Os inóculos foram transferidos para placas de Petri contendo Agar Nutriente acrescido de 150µg/mL de Fluconazol e Agar NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate) acrescido de 150µg/mL de Fluconazol, todos em triplicata (Rai *et al.*, 2018). As placas permaneceram sob incubação a 30°C por até 10 dias. Para as quantificação de bactérias diazotróficas, utilizou-se a metodologia do Número Mais Provável (NMP) por meio da inoculação em tubos contendo meio semi-sólido NFb.

Após a inoculação, foram isoladas 267 cepas bacterianas e estas foram submetidas a testes de caracterização bioquímica, sensibilidade a antimicrobianos, solubilização de fosfato de cálcio e fosfato de zinco, assimilação de nitrogênio, produção de ácido indol-acético, tolerância à salinidade, tolerância à variações de temperatura, pH e atmosfera, capacidade de inibição de fitopatógenos, tolerância à presença de glifosato e promoção do crescimento *in vitro* de plântulas de tomate variação Santa Clara (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

2.2- Análises Químicas e nutricionais

O pH do material seco ao ar foi medido em solução aquosa de CaCl_2 0,01mol/L e em água na proporção de 1:2,5 (EMBRAPA, 2009). Para as análises de macro e micronutrientes foram realizadas as metodologias estabelecidas segundo a EMBRAPA (1997) e Abreu, Andrade e Falcão (2006) e para as análises de substâncias húmicas, seguiu-se as metodologias descritas por Canellas (2005).

2.3- Análises estatísticas

Os resultados foram analisados estatisticamente por two-way ANOVA e quando um fator ou qualquer interação entre fatores foi considerado estatisticamente significativo, realizamos comparações pareadas por meio de um teste t e corrigimos os resultados correspondentes para comparações múltiplas usando o teste de Tukey em $p \leq 0,05$. Todas as análises foram realizadas no programa GraphPad Prism 7.0, com nível de significância de 5 % para teste de hipóteses.

2.4- Solubilização de fosfato de cálcio

Foi utilizado o protocolo segundo Nautiyal (1999), segundo o qual, após a diluição seriada do solo, estas foram plaqueadas em meio sólido NBRIP cuja composição está descrita na tabela 1. Em seguida as placas foram incubadas por 15 dias, a 30°C. Ao final da incubação, as bactérias que apresentaram um halo claro ao redor da colônia foram consideradas capazes de solubilizar o fosfato tricálcico. As colônias foram contadas e o número total foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por grama (g) de solo seco. Essas estirpes foram repicadas para novas placas contendo meio sólido NBRIP, após a segunda passagem os isolados foram armazenados a -20°C para serem submetidos a novos testes posteriormente.

Tabela 1. Composição do Agar NBRIP utilizado para teste de capacidade de solubilização de Fosfato de Cálcio

Agar NBRIP	
Reagentes	Quantidade L ⁻¹
Glicose	10g
MgCL ₂ .6H ₂ O	5g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25g
KCl	0,2g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5g
Agar bacteriológico	15g
pH = 7,0	

2.4.1- Medição dos halos provenientes da solubilização de fosfato de cálcio

Foi utilizado o protocolo adaptado de Sunithakumari, Padma Devi e Vasandha. (2016), segundo o qual, as bactérias previamente selecionadas nas culturas em agar NBRIP foram repicadas e, a partir da cultura recente foi feita uma suspensão na concentração de 10^8 UFC/mL (0,5 MacFarland) e transferida, para uma nova placa de agar NBRIP, 03 microgotas (volume de 8µl) para incubação por, pelo menos 10 dias, para medição do halo total produzido. Os halos foram medidos por meio de paquímetro em três posições diferentes, sendo realizada a média de cada halo e ao final da medição dos três halos, o cálculo da média final da bactéria.

2.5- Avaliação quantitativa da solubilização de fosfato de cálcio

Para a avaliação da capacidade de solubilização em meio líquido foi feito um pré-inóculo com os isolados em caldo nutritivo. A metodologia foi adaptada de D'Angelo, Crutchfield e Vandiviere (2001), onde o pré inóculo foi incubado a 30°C, 160 rpm overnight e, em seguida, foi transferido 1mL do inóculo para frasco do tipo erlenmeyer contendo 20 mL de meio NBRIP com fosfato tricálcico, seguida de nova incubação a 30°C, 160 rpm por 24 horas. Ao final foi retirada uma alíquota de 2 mL de cada inóculo, que foram centrifugadas a 12.000 rpm por 10 minutos para a sedimentação de partículas insolúveis presente no meio. O sobrenadante foi filtrado e utilizado para avaliação do fosfato solúvel pelo método verde malaquita. Para tal foram utilizados dois reagentes: o reagente A e o reagente B, que deve ser preparado a 80°C e, depois de resfriado à temperatura ambiente, antes de adicionar o verde malaquita (tabela 2). Ao final, 180 µl de água Miliq, 20 µl do sobrenadante e 40 µl do reagente A foram adicionados à microplaca de 96 poços, permanecendo sob agitação (900rpm) por 10 minutos. Por fim, foi adicionado 40 µl do reagente B em cada poço, seguindo de nova agitação por mais 20 minutos. A absorbância foi lida a 630 nm após os 20 minutos e a concentração de P inorgânico dissolvida foi calculada a partir de uma curva padrão com concentração: 0; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 µg mL (D'Angelo, Crutchfield e Vandiviere, 2001). A metodologia foi realizada em triplicata para cada amostra.

Tabela 2. Reagentes utilizados para a quantificação de fosfato solúvel

Reagente A	
Molibdato de amônio tetrahidratado	14.2 mmol L ⁻¹
H ₂ SO ₄	3.1M
Reagente B	
Solução aquosa de álcool polivinílico	3.5 g L ⁻¹
Verde malaquita	0.35 g L ⁻¹

2.6- Solubilização e tolerância ao zinco

Para a verificação da capacidade de solubilização de zinco foi utilizado o óxido de zinco (ZnO) ao invés de fosfato de cálcio na formulação do agar NBRIP na proporção de 0,1%. Em seguida as placas foram incubadas por 15 dias, a 30°C. Ao final da incubação, as bactérias que apresentaram um halo claro ao redor da colônia foram consideradas capazes de solubilizar o óxido de zinco (Bapiri *et al.*, 2012; Bokhari *et al.*, 2019). Além do teste de solubilização de zinco, seguindo a metodologia de Kour *et al.* (2019), submetemos todos os isolados a concentrações crescente de ZnO (0,5%, 0,75%, 1%, 1,25%, 1,5%, 1,75% e 2%) para testar quanto à capacidade de tolerar concentrações crescente deste metal.

2.7- Solubilização de fosfato de rocha

Para o teste de solubilização de fosfato de rocha, foi utilizada a adaptação da metodologia descrita por Bhattacharjya *et al.* (2019) que desenvolveram uma metodologia para triagem de microrganismos com potencial para solubilização de fosfato de rocha. Para tal foi preparado o caldo NBrib seguido da adição de 100ml/L de Solução de Azul de Bromotimol (0,5% em KOH 0,2N). Foi realizado um inóculo, em solução salina 0,85% e transferido 100µl para tubos contendo 0,5% de Fosfato de Rocha Reativo. Foi realizada a incubação em shaker, a 110rpm, 30°C, por 3 dias. Ao final foi observada a mudança de coloração de azul para amarelo (quando ocorre acidificação do meio). Como controle, foi utilizado o meio NBrib acrescido do indicador e sem inoculação.

2.8- Assimilação de nitrogênio

Para o teste de Assimilação de Nitrogênio foi utilizado o meio semi-sólido NFb (Nitrogen Free biotin-based), descrito na tabela 3, no qual as bactérias selecionadas foram inoculadas em profundidade no meio e, com os frascos semi-tapados, foram incubadas por 15 dias a 30°C. Ao final do período as bactérias que produziram alteração da cor do meio foram consideradas capazes de assimilar nitrogênio atmosférico (Dobereiner *et al.*, 1995).

Tabela 3. Composição do semi-sólido NFb para teste de assimilação de Nitrogênio

Meio semi sólido NFB	
Reagentes	Quantidade L⁻¹
Ácido málico	5g
K ₂ HPO ₄	0,5g
Mg ₂ SO ₄ .7H ₂ O	0,2g
NaCl	0,1g
CaCl ₂	0,02g
KOH	4,5g
Solução FeEDTA	4mL
Solução de Azul de Bromotimol	2mL
Solução de micronutrientes	2mL
Solução de vitaminas	1mL
Agar	1,8g
pH = 7,0	
Solução FeEDTA (1,64% - v/v)	
Quantidade por 100mL	
FeEDTA	1,64g
Solução de Azul de Bromotimol (0,5% em KOH 0,2N)	
Quantidade por 100mL	
Azul de Bromotimol	0,5g

KOH 0,2N	100mL
Solução de micronutrientes	
Quantidade por 100mL	
CuSO ₄	0,04g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,012g
H ₃ BO ₃	0,14g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,1g
MnSO ₄ .H ₂ O	0,15g
Solução de vitaminas (solução filtrada)	
Quantidade por 100mL	
Biotina	10mg
Vitamina B6	20mg

2.9- Produção de ácido indol-acético (AIA)

A avaliação da produção do ácido indol-acético foi desenvolvida a partir do método colorimétrico por meio da utilização do reagente de Salkowski (tabela 4). Após crescimento a 30°C e agitação a 175 rpm do pré inóculo, 100µl das amostras foram transferidas para tubos contendo 10mL de caldo DYGS (Dextrose Yeast Glucose Sucrose), descrito na tabela 5, seguida de nova incubação com agitação até que o inóculo alcance a fase exponencial. Após foi realizada nova transferência de 100µl para tubos, em triplicata, sem a presença de triptofano e com a adição de 40µl de solução de triptofano (tabela 6). Os tubos foram incubados, em ausência de luminosidade e sob agitação por mais 72h. Após este período foi realizada a centrifugação a 13.000 rpm por 5 minutos, seguidos da transferência de 100µl de cada amostra para microplaca e acrescida de 100µl do reagente de Salkowski. A microplaca, então, foi acondicionada protegida da luz, permanecendo assim por 30 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540nm e a concentração da produção do AIA foi determinada utilizando a equação da curva de calibração de AIA, cuja composição está descrita na tabela 7. (Sarwar e Kremer, 1995; Rodrigues, 2007).

Tabela 4. Composição do Reagente de Salkowski para teste de produção de AIA

Reagente de Salkowski	
Reagentes	Quantidade
Solução de FeCl ₃ .6H ₂ O 0,5 M (1,35 g/10 mL)	1mL
HClO ₄	50mL

Tabela 5. Composição do caldo DYGS

Caldo DYGS	
Reagentes	Quantidade L-1
Glicose	6g
Peptona bacteriológica	1,5g
Extrato de levedura	2g
K ₂ HPO ₄	0,5g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5g
Ácido glutâmico	1,5g
pH = 6,0	

Tabela 6. Composição da solução estoque de Triptofano

Solução de Triptofano	
Reagentes	Quantidade
Triptofano	0,5g
Água ultrapura	100mL
Esterilizar por filtração e armazenar em frasco âmbar	

Tabela 7. Composição da solução de Ácido Indol Acético para preparo da curva de calibração

Solução de AIA sintético	
Reagentes	Quantidade

Ácido Indol Acético	0,025g
NaOH 1M	5mL
Água destilada	qsp 100mL
Armazenar em frasco âmbar	

2.10- Caracterização bioquímica e coloração de Gram

Os isolados foram submetidos às análises de caracterização bioquímica e coloração de Gram. Foram avaliadas quimicamente quanto à atividade da catalase e oxidase, teste de ONPG, fermentação de e Lactose, utilização de diferentes carboidratos como única fonte (Ramnose, Adonitol, Salicina, Arabinose, Inositol, Sorbitol, Sacarose, Manitol e Rafinose), hidrólise da arginina e uréia, produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S) e acetoína, descarboxilação da lisina e ornitina, teste de Indol e utilização do Citrato de sódio e Malonato como única fonte de carbono (Tortora *et al.*, 2010; Koneman *et al.*, 2012; Chawngthu *et al.*, 2020).

2.11- Sensibilidade a antimicrobianos

Os testes de sensibilidade a antimicrobianos foram realizados segundo o CLSI (2018). Para tal foram preparados inóculos, provenientes de culturas recentes, em solução salina estéril e ajustados quanto à turbidez na escala nefelométrica padrão de 0,5 MacFarland o que corresponde a, aproximadamente 1.5 x 10⁸ UFC/ml. Com o auxílio de um swab estéril foi realizada a transferência do inóculo para placa de Petri contendo Agar Müller-Hinton. Os discos de antibióticos selecionados foram dispostos sobre as placas e estas permaneceram, sob incubação, a 30°C por 48h. Foi realizada a medição dos halos formados com o auxílio de um paquímetro.

2.12- Tolerância aos estresses abióticos

Os testes de tolerância à salinidade, foram desenvolvidos a partir de um pré inóculo de cada amostra sendo transferidos para tubos contendo Caldo Nutriente acrescidos de Cloreto de Sódio (NaCl) em concentrações variadas (0%, 1%, 2,5%,

5%, 6%, 6,5% e 7%) e incubados por 48h a 30°C e 110rpm. Da mesma forma foram conduzidos os ensaios de tolerância ao pH (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12) e de tolerância à ausência de oxigênio (Moradi *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2016; Shultana *et al.*, 2020). O ensaio de tolerância à ausência de oxigênio foi desenvolvido com os tubos controle sendo incubados em atmosfera ambiente (presença de, aproximadamente, 21% de oxigênio e 0,035% de dióxido de carbono) e os tubos testes sendo incubados em microaerofilia (5-6% O₂ e 8-10% CO₂) e em anaerobiose (<3% O₂ e 4-10% CO₂) com incubação por 48h (Li *et al.*, 2016; Jenkins *et al.*, 2021).

Os ensaios de tolerância às variações de temperatura (25°C, 30°C, 36°C e 42°C), também foram realizados após o preparo do pré-inóculo, com os testes sendo realizados em Caldo Nutriente e incubação por 48h (Moradi *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2016; Shultana *et al.*, 2020).

2.13- Compatibilidade entre as cepas prospectadas e com outros microrganismos promotores de crescimento vegetal

Os testes de compatibilidade foram desenvolvidos segundo Ruiz, Roman e Sanchez (1996) e, para a condução foi realizado um pré-inóculo que, após o crescimento foi ajustado para a concentração de 0,5 MacFarland e transferidos, com auxílio de swab estéril, para placas de Petri contendo Agar Müller-Hinton. Estas placas foram incubadas a 30°C por 24h para servirem de base para o corte de discos de, aproximadamente, 20mm de diâmetro contendo as bactérias desafiadas. Outros pré-inóculos foram desenvolvidos, com os mesmos parâmetros para serem transferidos para placas-testes. Desta forma uma placa-teste contendo uma das bactérias recebia discos, pré-incubados, de cada uma das outras bactérias, em triplicata, para verificação da possibilidade de formação de consórcio microbiano. As placas foram incubadas a 30°C por 24h e verificada a formação de halos de inibição ou se havia crescimento normal da bactéria na placa-teste. A mesma metodologia foi aplicada para o teste com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae*, porém utilizando placas contendo o meio DYGS (tabela 5) acrescido de 15g/L de agar bacteriológico.

Também foi desenvolvido o mesmo teste entre as bactérias e os fungos *Serendipita indica* e *Trichoderma sp.*, porém neste ensaio, o fungo micorrízico, obtido da coleção da professora Dra. Cristina Cruz (Universidade de Lisboa), foi inoculado

no centro da placa contendo meio Kaefer modificado (tabela 8) e, ao seu redor, foi aplicada 10µl da suspensão de cada bactéria. Para o teste com o *Trichoderma sp*, foi utilizado o agar Sabouraud Dextrose, e o fungo foi inoculado em uma lado da placa e os discos contendo as bactérias já desenvolvidas foram dispostos na outra extremidade. Em ambos os testes foram observados o desenvolvimento, tanto do fungo quanto das bactérias e se havia formação de halo de inibição. Todos os testes foram realizados em triplicata (Kumar *et al.*, 2015; del Barrio-Duque *et al.*, 2019)

Tabela 8. Meio Kaefer modificado utilizado para cultivo do fungo *Serendipita indica*

Meio Kaefer modificado	
Reagentes	Quantidade L⁻¹
Glucose	20g
Peptona	2g
Extrato de Levedura	1g
Caseína hidrolisada	1g
Solução de macronutrientes (A)	50mL
Solução de micronutrientes (B)	10mL
Ferro EDTA (C)	1mL
Solução de vitaminas (D)	1mL
Agar bacteriológico	20g
Solução de Macronutrientes (A)	
NaNO ₃	12,0g
KCl	10,4g
MgSO ₄ .7H ₂ O	10,4g
KH ₂ PO ₄	30,4g
Solução de micronutrientes (B)	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	2,2g
MnSO ₄ .7H ₂ O	0,5g
Ácido Bórico	1,1g
CoCl ₂ .5H ₂ O	160mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	160mg

Molibdato de Amônio (C)	110mg
Solução de Ferro EDTA (C)	
FeSO ₄ .7H ₂ O	556 mg em 50 ml de H ₂ O
EDTA	744 mg em 50 ml de H ₂ O
Solução de vitaminas (D)	
Tiamina	100mg
Glicina	40mg
Piridoxina	10mg
Ác. Nicotínico	10mg

2.14- Capacidade de inibição de fungos fitopatógenos

Os fungos utilizados para o teste de inibição de fitopatógenos foram *Alternaria alternata*, *Phoma betae*, *Rhizopus stolonifer*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia pallescens* e *Botrytis cinerea*, todos cedidos pelo Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco.

O teste foi adaptado de Liu *et al.* (2019), com discos previamente inoculados com as bactérias testadas quem foram dispostos a, aproximadamente, 0,5cm de distância da borda da placa de Petri contendo Agar Sabouraud Dextrose e, na outra extremidade foi inoculado 10µl de uma suspensão feita com cada uma dos fungos fitopatógenos em solução salina 0,85% (0,5 MacFarland). Foi realizada a incubação, a 25°C por até 7 dias (de acordo com a velocidade de crescimento dos fungos nas placas-controle). Foi realizada a medição diariamente e, ao final, foi realizada o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), segundo a fórmula abaixo (PIC), e a medição dos halos de inibição quando formados (Menten *et al.*,1976). Também foi determinado o índice de velocidade do crescimento micelial (IVM), expresso em mm dia⁻¹ por meio da fórmula abaixo (Oliveira, 1991), na qual *T* é o tamanho médio atual da colônia, *Ta* é o tamanho médio da colônia no dia anterior e *N* se refere ao número de dias após a repicagem. Os testes foram realizados em triplicata.

$$PIC = \left(\frac{\text{diâmetro do controle} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro do controle}} \right) \times 100$$

$$IVM = \frac{\sum (T - T_a)}{N}$$

2.15- Tolerância à presença de glifosato

As bactérias a serem testadas foram cultivadas para a preparação de um pré-inóculo para a realização da curva de tolerância à presença de glifosato. O inóculo foi, então, preparado a partir da suspensão bacteriana 0,5 MacFarland em solução salina 0,85% e então diluído até a concentração aproximada de 10^7 UFC/mL. Foi transferido 1mL do inóculo para tubos contendo Caldo Nutriente com concentrações crescentes de glifosato (0mg/mL, 10 mg/mL, 12,5 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL e 100 mg/mL). Os tubos foram incubados por 5 dias, a 30°C e 110rpm. Ao final foram realizadas leituras em microplacas de 96 poços em leitor de ELISA a 600nm (Benslama e Boulahrouf, 2013; Wijekoon e Yapa, 2018).

2.16- Inoculação in vitro em sementes de tomate variação Santa Clara (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Sementes de *Lycopersicon esculentum* Mill. foram desinfetadas, superficialmente com uma solução de hipoclorito de sódio 2,5% por 5 minutos, seguida de imersão em solução de álcool 70% por 2 minutos e finalizada com lavagem com água deionizada por 30 minutos (Lanna Filho, Romeiro e Alves, 2010) e inseridas em placas contendo meio Murashige e Skoog Basal ($\frac{1}{2}$ MS), pH 5,8 sem sacarose por 2 dias no escuro e depois germinadas por um período adicional 5 dias a 22 °C, fotoperíodo de dia longo (16 h claro/8 h escuro), 70 Lux (Bokhari *et al.*, 2019).

Para a realização do potencial das bactérias isoladas em tomate, foram selecionadas quatro cepas bacterianas, de acordo com o desempenho nos testes anteriores, que foram cultivadas, individualmente, em Caldo Nutriente até a densidade óptica 1 (600 nm). Foi realizada a diluição até 10^4 UFC/mL e inoculada 10μl da

suspensão em cada uma das mudas de tomate, com 5 dias de idade. O controle utilizado para este método foi de mudas não inoculadas. Foram preparadas 5 placas com distribuição de 5 sementes em cada, totalizando 25 réplicas para cada tratamento. Ao final de 8 dias foi calculada a densidade da raiz lateral, utilizando o cálculo padrão, isto é, o número médio de raízes laterais/cm de comprimento da raiz (Ortiz-Castro, Campos-García e López-Bucio, 2019). Também foi calculado o peso fresco das raízes e das partes aéreas, seguida da secagem por 48h a 40°C, e cálculo do peso seco de cada região (Fossati e Nogueira, 2009; Bokhari *et al.*, 2019).

2.17- Teste de cepas por sua capacidade de aumentar a tolerância ao estresse salino de tomate variação Santa Clara (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Sementes de *Lycopersicon esculentum* Mill. foram desinfetadas, superficialmente com uma solução de hipoclorito de sódio 2,5% por 5 minutos, seguida de imersão em solução de álcool 70% por 2 minutos e finalizada com lavagem com água deionizada por 30 minutos (Lanna Filho, Romeiro e Alves, 2010) e inseridas em placas contendo meio Murashige e Skoog Basal ($\frac{1}{2}$ MS), pH 5,8 sem sacarose, com 100mMol de NaCl, por 2 dias no escuro e depois germinadas por um período adicional 5 dias a 22 °C, fotoperíodo de dia longo (16 h claro/8 h escuro), 70 Lux (Bokhari *et al.*, 2019).

Para a realização do teste de capacidade de aumentar a tolerância ao estresse salino de tomate, foram selecionadas duas cepas que apresentaram maior produção de Ácido Indol Acético (item 2.9) e maior tolerância à salinidade (item 2.12). Estas foram cultivadas, individualmente, em Caldo Nutriente até a densidade óptica 1 (600 nm). Foi realizada a diluição até 10^4 UFC/mL e inoculada 10µl da suspensão em cada uma das mudas de tomate, com 5 dias de idade. O controle utilizado para este método foi de mudas não inoculadas. Foram preparadas 5 placas com distribuição de 5 sementes em cada, totalizando 25 réplicas para cada tratamento. Ao final de 8 dias foi calculada a densidade da raiz lateral, utilizando o padrão, isto é, o número médio de raízes laterais/cm de comprimento da raiz (Ortiz-Castro, Campos-García e López-Bucio, 2019). Também foi calculado o peso fresco das raízes e das partes aéreas, seguida da secagem por 48h a 40°C, cálculo do peso seco de cada região e cálculo da porcentagem de germinação (Fossati e Nogueira, 2009; Bokhari *et al.*, 2019).

3- Resultados e Discussão

3.1- Análises Químicas e de macro e micronutrientes

O pH dos solos analisados foi predominantemente ácido em todas as áreas de coleta (tabela 9), não tendo sido observada diferença significativa entre os valores encontrados nos pontos amostrais em ambas as técnicas utilizadas. A realização das duas metodologias foi para eliminar qualquer possibilidade de interferência, uma vez que, a medição em água pode resultar em resultados errôneos, devido à presença de turbidez e sujidades no eletrodo. Além disso, por ser de região salina, o solo analisado apresenta maior condutividade elétrica, o que também pode interferir com os resultados. Portanto a solução de cloreto de cálcio corrige a condutividade elétrica além de melhorar o processo de decantação das frações argilosas do solo, impedindo a contaminação do eletrodo. De modo geral, a leitura do pH em Cloreto de Cálcio é 0,5 pontos abaixo do pH em água (EMBRAPA, 2009).

Kooijman *et al.* (2020) verificaram que o pH influencia profundamente na disponibilidade de fósforo e nas estratégias das plantas, onde em dunas com alto pH há forte ligação do fósforo com ferro e, mesmo havendo grandes quantidades de fósforo inorgânico, este se torna indisponível. Dessa forma, há uma prevalência de plantas de baixa competitividade associadas a micorrizas arbusculares para melhorar a aquisição de fosfatos (Kooijman *et al.*, 2020). Já em dunas ácidas, além da maior disponibilidade de fósforo, devido à dissolução dos fosfatos de cálcio, há predominância de plantas não micorrízicas, que aumentam a absorção de fósforo por meio da exsudação de carboxilatos e enzimas fosfatase, destacando uma maior importância das vias bacterianas do que as vias fúngicas, neste tipo de solo, em relação à aquisição de fosfatos (Kooijman *et al.*, 2020).

Tabela 9: Dados das análises bioquímicas e nutricionais das amostras de solo coletadas

	unidade	Conservada com cobertura vegetal	Conservada sem cobertura vegetal	Degradada com cobertura vegetal	Degradada sem cobertura vegetal
pH em água	-	4,50	4,85	4,05	4,70
pH em CaCl ₂	-	3,65	3,95	3,20	3,65
Carbono Orgânico total	g/kg	23,05	9,70	13,90	8,33
Fósforo-Mehlich	mg/dm ³	4,00	1,50	3,00	1,00
Fósforo-remanescente	mg/L	43,50	43,00	44,00	44,00
Nitrogênio total	g/kg	0,74	0,20	0,41	0,17
Matéria orgânica	dag/dm ³	6,85	0,75	3,70	0,85
Alumínio	cmol _c /dm	0,85	0,65	1,30	0,75
Cálcio	cmol _c /dm	2,30	0,20	0,30	0,30
Magnésio	cmol _c /dm	1,70	0,10	0,25	0,10
Potássio	cmol _c /dm	46,00	8,50	19,00	4,50
Ferro	mg/dm ³	18,50	10,00	19,50	13,50
Zinco	mg/dm ³	1,50	0,20	0,95	0,30
Cobre	mg/dm ³	0,15	0,10	0,10	0,10
Manganês	mg/dm ³	15,50	1,50	1,50	1,00
Boro	mg/dm ³	0,52	0,10	0,17	0,08
Sódio	mg/dm ³	27,00	2,50	10,50	3,50
Cádmio total	mg/kg	0,50	0,50	0,50	0,50
Cromo total	mg/kg	2,25	1,75	2,25	2,75
Níquel total	mg/kg	0,50	0,50	0,50	0,50
Chumbo total	mg/kg	0,50	0,50	0,50	0,50
CTC efetiva	cmol _c /dm	5,10	0,95	1,95	1,15
CTC a pH 7,0	cmol _c /dm	23,55	1,95	15,15	2,30
Saturação de bases	%	18,60	16,85	4,50	18,35
Saturação de alumínio	%	17,50	66,00	68,00	64,50
Saturação de Ca na CTC a pH 7,0	%	10,25	10,20	2,10	13,00
Saturação de Mg na CTC a pH 7,0	%	7,35	5,10	1,80	4,30
Saturação de K na CTC a pH 7,0	%	0,50	1,10	0,35	0,50
Saturação de Na	%	0,50	0,40	0,30	0,50
Relação C/N		36/1	35/1	36/1	34/1
Razão atômica C/N		9,20	10,18	8,66	6,83
Grau de humificação	%	92,06	84,30	82,23	76,42
Carbono da fração humina	g/kg	3,65	2,00	2,58	1,35
Carbono da fração ácido húmico	g/kg	11,31	4,91	6,76	3,75
Carbono da fração ácido fúlvico	g/kg	2,97	1,29	2,07	1,25
Porcentagem de sódio trocável (PST)	%	50,60	7,90	26,10	26,60
Relação de adsorção de sódio (RAS)		1,70	0,10	0,80	0,90
Condutividade elétrica	dS/m	0,205	0,049	0,046	0,040

Os teores de carbono não apresentaram diferença significativa entre as áreas estudadas. Segundo Nayak, Behera e Dash (2019), nos ecossistemas de areia, há uma menor disponibilidade de carbono devido à baixa cobertura vegetal, o que pode influenciar diretamente no microbioma. Ainda segundo um levantamento de teores de carbono total em áreas cultiváveis arenosas e costeiras ao longo do Oceano Pacífico, foram descritos valores que variaram desde 4,4 g/Kg até 24,35 g/Kg, na profundidade de 0 a 20cm (Schlesinger, 1999; Cui *et al.*, 2012; Bai *et al.*, 2013; Hubbard, Strickland e Phatak, 2013; Nayak, Behera e Dash, 2019). Desta forma, nossos valores se encontram, de modo geral, próximos aos valores descritos em outros trabalhos.

Os valores de matéria orgânica encontrados também correspondem ao esperado, pois a cobertura vegetal e formação de serapilheira na base da formação arbustiva contribui para uma maior retenção de matéria orgânica nesta região do que nas regiões sem cobertura vegetal, contribuindo na humificação pela ação de ácidos orgânicos liberados por microrganismos e facilitando a dissolução de minerais e formando complexos com elementos de baixa solubilidade, como ferro e alumínio (Barcelos *et al.*, 2012; Silva, Melo Júnior e Matilde-Silva, 2022).

Todos os teores de carbono das frações de ácido húmico, ácido fúlvico e humina estão dentro dos valores de proporção geralmente descritos em relação ao carbono total, porém pôde-se verificar um valor maior na amostra proveniente do soloda região conservada com cobertura vegetal, bem como o maior valor de grau de humificação foi encontrado também na mesma região, tendo sido encontrada diferença significativa entre os pontos amostrados (figura 3).

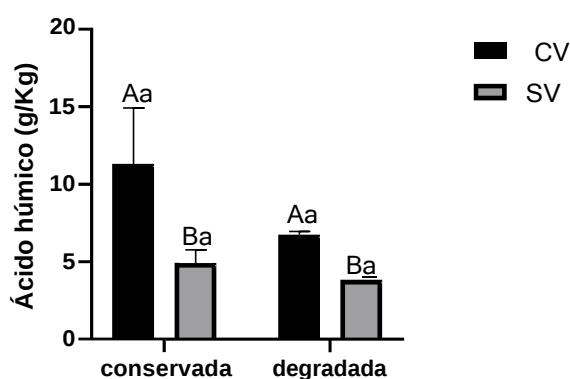


Figura 3. Gráfico de teores de Ácido húmico no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do PEPCV, Guarapari, ES. UFC = unidades formadoras de colônia. Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

Foi observada uma correlação positiva entre o grau de humificação e o teor de carbono orgânico total (figura 4A) o que é esperado, pois o grau de humificação reflete o grau de ciclagem de nutrientes e estabilidade do solo (Haouas *et al.*, 2021). Da mesma forma foi observada a correlação positiva entre os valores da relação C/N e o

grau de humificação (figura 4B). Esta relação possui grande importância pois reflete a atividade biológica do solo, isto é, as atividades microbianas (Kurganova *et al.*, 2021).

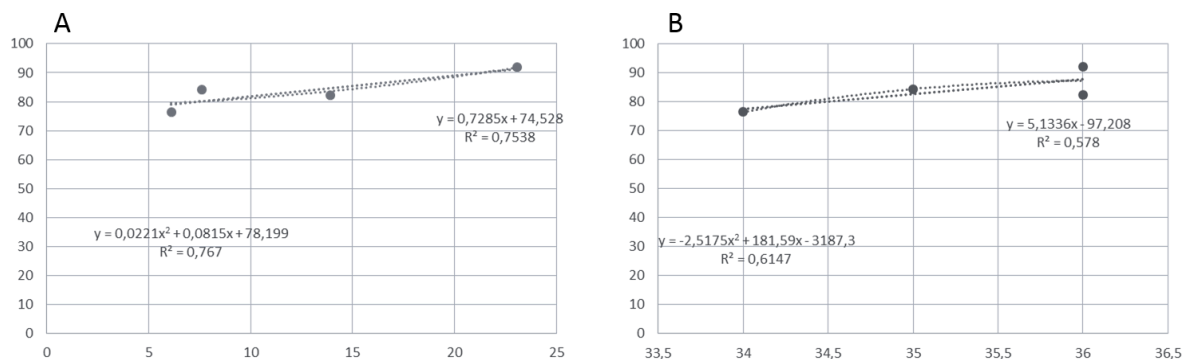


Figura 4. Gráficos de correlação por análise de regressão de Pearson entre valores de carbono e grau de humificação (A) e entre os a relação C/N e o grau de humificação (B) em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal do PEPCV, Guarapari, ES.

Foi verificada diferença significativa nos teores de nitrogênio total entre todas as áreas, exceto entre as áreas sem cobertura vegetal de ambas regiões (figura 5).

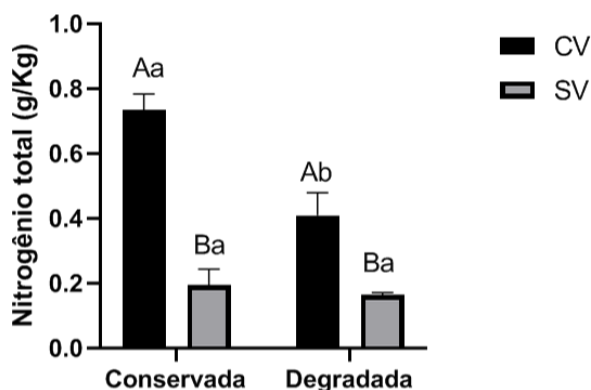


Figura 5. Gráfico de teores de Nitrogênio total no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do PEPCV, Guarapari, ES. UFC = unidades formadoras de colônia. Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

Estas diferenças podem ser explicadas pela formação arbustiva do local de coleta, que, nos dois pontos com cobertura vegetal (conservado e degradado) haviam

formações arbustivas com presença de *Clusia hilariana*, uma espécie dominante deste bioma capaz de atrair dispersores de sementes afetando a densidade de mudas e riqueza de sub-bosque (Loureiro *et al.*, 2022) e, segundo Brito *et al.* (2018), o solo sob essas formações arbustivas permite um maior acúmulo de nitrogênio devido à comunidade microbológica que se forma neste local do que em comparação a formações arbustivas sem *Clusia hilariana*. Portanto a preservação da formação arbustiva da região conservada também contribuiu notadamente para a diferença entre este ponto e o da formação arbustiva não preservada.

Os valores de potássio foram consideravelmente maiores nas regiões com cobertura vegetal, com destaque maior para a região conservada. Houve diferença significativa em todas as áreas estudadas, exceto entre as áreas sem cobertura vegetal (Figura 6). Foi observada uma correlação positiva entre os valores de potássio e a capacidade de troca catiônica (CTC), tanto a afetiva quanto em pH 7 (Figura 7), e um maior valor na região conservada com cobertura vegetal, isto significa que esta região apresenta maior capacidade de retenção de potássio o que permite uma maior disponibilidade para as plantas e microrganismos.

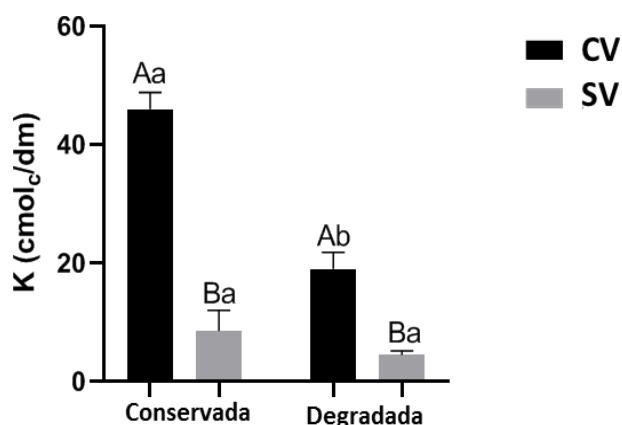


Figura 6. Gráfico de teores de Potássio no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do PEPCV, ES. UFC = unidades formadoras de colônia. Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

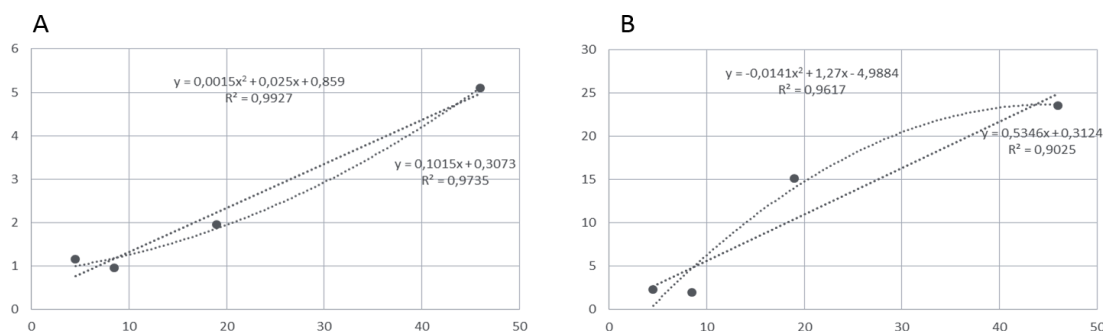


Figura 7. Gráficos de correlação por análise de regressão de Pearson entre valores de potássio e CTC efetiva (A) e entre valores de potássio e CTC em pH 7 (B) em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do PEPCV, Guarapari, ES.

Em comparação com o trabalho realizado por Bonilha *et al.* (2012), nossos valores de potássio foram muito maiores do que os encontrados por eles em diferentes regiões de Restinga no Estado de São Paulo, enquanto que os teores de alumínio foram muito mais baixos que os descritos, porém, ainda assim, acima do considerado seguro do ponto de vista toxicológico para a vegetação, pois para algumas espécies de plantas mais sensíveis, valores acima de $0,5 \text{ cmolc dm}^{-3}$ podem causar inibição do crescimento radicular e interferência nos processos de mineralização da matéria orgânica (Sobral *et al.*, 2015; Mabagala, 2022).

Entre os valores de Manganês (Mn) não foi observada diferença significativa, assim como entre os valores de Boro. Os valores de Mn geralmente se encontram acima de 100 mg/kg e o teor disponível, entre 1 e 50 mg/dm^3 , o que demonstra que todos os pontos estão muito abaixo do limite mínimo (Lindsay, 1972; Dias dos Santos *et al.*, 2021). Os teores de Boro, de modo geral, estão também abaixo do limite mínimo e apenas o valor correspondente à região com cobertura vegetal conservada, apresentou um valor considerado mediano, isto é, entre $0,36$ e $0,60 \text{ mg/dm}^3$ (Lindsay, 1972; Dias dos Santos *et al.*, 2021). Geralmente os teores de Mn em solo ácido estão mais elevados, principalmente na forma de íons, porém o tipo de solo (arenoso) pode contribuir para a baixa retenção de minerais. Este micronutriente é de grande importância para a planta por participar diretamente do metabolismo de fotossíntese, porém em altas concentrações, se torna tóxico. A sua deficiência interfere diretamente na formação da clorofila e, conseqüentemente, no desenvolvimento vegetal (Dias dos Santos *et al.*, 2021). Da mesma forma, com o Boro que, em solo ácidos, tende a ser encontrado em maiores concentrações, sendo um micronutriente essencial para as

plantas, mas que em altas concentrações pode causar intoxicação e, em baixas concentrações, também prejudicará o desenvolvimento radicular e foliar além do metabolismo do ácido nucléico e funções da membrana (Dias dos Santos *et al.*, 2021; Tomicioli Leal and Coelho, 2021).

Os teores de cobre também se encontram muito abaixo do limite mínimo ($0,6 \text{ mg/dm}^3$), provavelmente ao tipo de solo e sua baixa retenção de nutrientes. Este elemento está associado às reações de oxirredução, metabolismo proteico e à fixação de nitrogênio. A melhor disponibilidade de cobre se encontra em solo com pH levemente ácidos (entre 5,0 e 6,5) podendo se tornar tóxico, quando em maior concentração em solo muito ácidos (Dias dos Santos *et al.*, 2021).

Apesar das áreas de amostragem pertencerem a um bioma com solo de maior salinidade, foram observados valores considerados moderados para um solo arenoso (de 20 a 50 mg/dm^3) e, apesar do maior teor de sódio nas áreas com cobertura vegetal, só foi observada diferença significativa entre as áreas com e sem cobertura vegetal conservadas (figura 8).

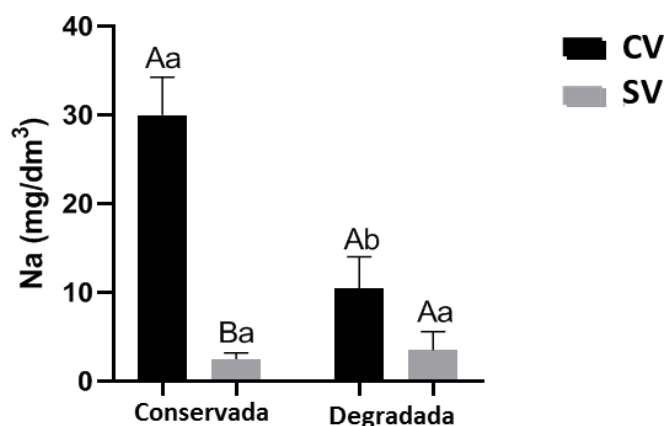


Figura 8. Gráfico de teores de Sódio no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do Parque Estadual Paulo César Vinha, Guarapari, ES. UFC = unidades formadoras de colônia. Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

Ainda assim, de acordo com os valores da condutividade elétrica, porcentagem de sódio trocável (PST), relação de adsorção de sódio (RAS) e o pH e, utilizando os valores de referência descritos por Sobral *et al.* (2015), todos os pontos amostrados

podem ser classificados como solos salinos. O sódio, em condições naturais, não é um elemento essencial para as plantas e, geralmente, quando em maiores concentrações, pode causar efeitos deletérios, porém nos biomas de restinga, os organismos naturalmente residentes, apresentam uma adaptação para o seu desenvolvimento e preservação (Bonilha *et al.*, 2012; Dias dos Santos *et al.*, 2021).

As análises de saturação de alumínio apresentaram valores extremamente altos para todas as áreas, exceto a conservada com cobertura vegetal. Foram observadas diferenças significativas entre as regiões com e sem cobertura vegetal da área conservada e também entre os dois pontos de coleta da área degradada (figura 9). Apesar do alumínio ser um micronutriente de ocorrência natural em solos ácidos, uma alta concentração pode ser prejudicial para o desenvolvimento das plantas (Sobral *et al.*, 2015). A saturação de alumínio indica a porcentagem de bases de trocado solo ocupadas pelo alumínio e, quando esta está acima de 30%, pode causar limitações ao desenvolvimento de certas plantas, entre 30% e 50% há possibilidades de toxicidade e acima de 50% a saturação indica uma alta saturação do solo (Ferreira, Moreira and Rassini, 2006; Sobral *et al.*, 2015).

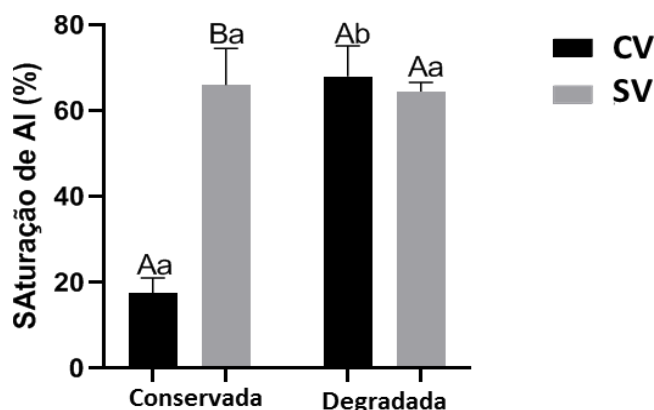


Figura 9. Gráfico de Saturação de Alumínio no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do PEPCV, Guarapari, ES. UFC = unidades formadoras de colônia. Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

Teores de saturação por alumínio acima de 30% causam limitações em culturas perenes, entre 30 e 50% é considerado um grau médio de toxidez, acima de 50% o

solo apresenta uma toxidade alta, sendo necessário uma correção imediata da subsuperfície do solo (Roquim, 2010).

Já os valores de saturação por base não apresentaram diferença significativa, porém destacou-se o valor muito inferior da área degradada com cobertura vegetal que, segundo Almeida Filho *et al.* (2013) que trabalhou com biomas de restinga, dever ser maior que 10. Este menor valor pode estar relacionado aos menores valores de Ca, Mg e K nesta região com relação aos outros pontos de coleta, que indicam baixa reserva nutricional no solo. A retirada da cobertura vegetal, como ocorre com a região degradada com cobertura vegetal, é responsável pelo desequilíbrio na região rizosférico, incluindo o desequilíbrio nutricional (Ako *et al.*, 2014; Touré *et al.*, 2019).

Não foi observada nenhuma diferença significativa entre os valores encontrados na análise de fósforo remanescente, porém nas análises de fósforo Mehlich, foi verificada diferença significativa entre os pontos dentro de cada área, isto é, entre o ponto com cobertura vegetal e o ponto sem cobertura vegetal da área conservada, e entre o ponto com cobertura vegetal e o ponto sem cobertura vegetal da área degradada (figura 10). A metodologia utilizada na técnica de fósforo-Mehlich indica a quantidade de fósforo no solo disponível para a absorção pelas plantas. Já na quantificação de fósforo remanescente, dosa a fração de fósforo não extraída pela metodologia de Mehlich, quantificando as formas de fósforo menos solúveis ou queladas no solo (Sobral *et al.*, 2015). Uma maior presença de microrganismos solubilizadores de fosfatos nas regiões de rizosfera pode explicar os valores maiores encontrados nas análises de fósforo Mehlich, da mesma forma que os valores altos do fósforo remanescente podem estar diretamente ligados ao pH do solo e aos altos teores de ferro que, apesar de não terem se diferenciado significativamente entre os pontos de coleta, estão todos altos, isto é, acima de 10 mg/dm^3 (Sobral *et al.*, 2015). Uma alta concentração de ferro pode interferir diretamente na disponibilidade de fósforo para as plantas, uma vez que, principalmente em pH ácido, abaixo de 5,5 como o do nosso estudo, este se liga ao fósforo, formando compostos insolúveis, o tornando indisponível além de o influenciar na sua biodisponibilidade, o tornando tóxico causando danos nas raízes e interferindo na nutrição das plantas. (Kooijman *et al.*, 2020).

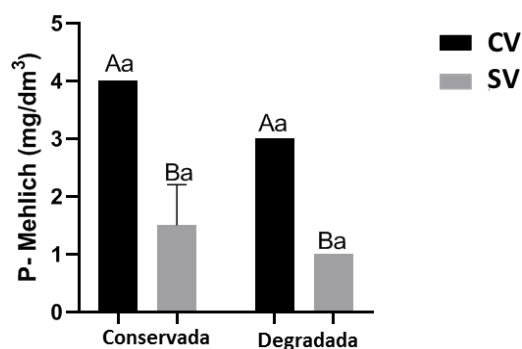


Figura 10. Gráfico de valores de Fósforo Mehlich no solo em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do PEPCV, Guarapari, ES. UFC = unidades formadoras de colônia. Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

De modo geral os teores de zinco encontrados estão muito abaixo dos valores de referência que estabelecem um limite mínimo de 10 mg/dm^3 para solo considerados com baixo teor de zinco (Lindsay, 1972) porém, se comparados aos valores descritos por Bonilha *et al.* (2012), os nossos valores das duas regiões com cobertura vegetal, foram até cinco vezes mais altos. Apesar das diferenças de valores, não foi verificada nenhuma diferença significativa. Este elemento é um micronutriente essencial às plantas, porém em concentrações mais elevadas pode se tornar tóxico, inclusive para microrganismos promotores de crescimento vegetal. Geralmente em solos arenosos, é encontrado em teores mais baixos pois apresentam capacidade baixa de retenção, porém provavelmente devido à alta concentração de matéria orgânica encontrada nesta área associada ao baixo pH, o teor de zinco também se mostrou maior que nas outras áreas (Hou *et al.*, 2019; Piśula and Stępień, 2021).

Os valores de Chumbo, Níquel, Cromo e Cádmio estão todos muito abaixo dos limites estabelecidos pelo CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente (2010) para solo com influência antrópica que é de 72 mg/kg , 30 mg/kg , 75 mg/kg e $1,3 \text{ mg/kg}$, respectivamente.

3.2- Quantificação de bactérias totais e fungos

A maior densidade de bactérias totais foi encontrada na área conservada com cobertura vegetal ($5.82 \text{ Log UFC g}^{-1}$) (figura 11A). Na área conservada, a densidade de bactérias totais foi significativamente maior na região fechada do que na região aberta, com uma diferença de 79,75% entre elas. Não houve diferença significativa entre as regiões com cobertura vegetal (CV) e sem cobertura vegetal (SV) quando analisada somente a área degradada.

A distribuição de fungos totais ocorreu de forma oposta à distribuição de bactérias totais (figura 11B). A maior densidade de fungos foi observada na área degradada com cobertura vegetal ($1,23 \text{ Log UFC g}^{-1}$), sendo 76,5% maior do que na região sem cobertura vegetal da mesma área. Dentro da área conservada, a densidade de fungos foi significativamente maior na região com cobertura vegetal em relação a sem cobertura vegetal, com uma diferença de 40% (figura 11B). Não houve diferença significativa entre as áreas conservada e degradada com cobertura vegetal.

Nossos resultados foram muito próximos aos descritos por Pupin e Nahas (2014), que quantificaram bactérias totais de solo de restinga, porém eles também relatam contagens muito maiores nos solos de manguezal e mata atlântica, o que está dentro de um esperado devido às características abióticas do solo de restinga.

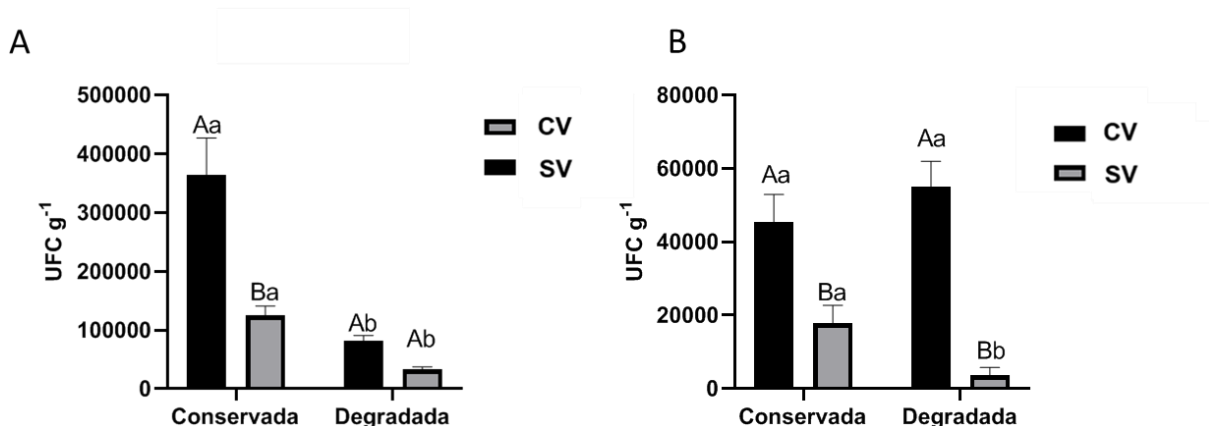


Figura 11. Densidade de bactérias totais por grama de solo (A) e densidade de fungos totais por grama de solo (B), em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do PEPCV, Guarapari, ES. UFC = unidades formadoras de colônia. Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

Em um trabalho desenvolvido em áreas de dunas no norte da China, foi relatado que, além da maior abundância e diversidade bacteriana encontradas em solos rizosféricos, em relação às áreas de solo bruto (sem cobertura vegetal), também verificou-se uma maior presença de nutrientes nessas regiões principalmente de fósforo (Gao *et al.*, 2019). Rousk *et al.* (2010) verificou a influência do pH sobre a formação da comunidade microbiana de solos, e observou que a comunidade bacteriana é muito mais suscetível à influência do pH, podendo até dobrar o seu número e aumentar significativamente sua diversidade, quando o pH do solo está entre 4 e 8 (com a taxa de aumento do número e diversidade aumentando de acordo com o aumento do pH), enquanto que a comunidade fúngica praticamente não se altera (Rousk *et al.*, 2010). No entanto, Kooijman *et al.* (2020), comparando também comunidade microbianas em diferentes dunas, relataram uma maior comunidade fúngica em dunas ácidas, porém não observaram influência direta do pH sobre a comunidade bacteriana pois, em dunas ácidas, a presença de plantas não micorrízicas pode provocar um efeito positivo sobre a comunidade bacteriana, pois a exsudação de citratos e oxalatos (para a mobilização de moléculas de fósforo fracamente absorvidas) podem ser utilizadas como fontes de carbono pelas bactérias garantindo o seu equilíbrio (Gerke, 2015; Kooijman *et al.*, 2020).

3.3- Quantificação de bactérias solubilizadoras de fosfato e fixadoras de nitrogênio

A quantificação de bactérias solubilizadoras de fosfato e fixadoras de nitrogênio apresentou um perfil semelhante (figura 12). Para ambos tipos de bactérias, a maior densidade foi observada na área conservada de região com cobertura vegetal, sendo 4,13 e 4,06 Log UFC g⁻¹, para solubilizadoras e fixadoras, respectivamente. A densidade das bactérias solubilizadoras e fixadoras foi significativamente menor na área conservada sem cobertura vegetal em relação a região com cobertura da mesma área, porém, não foi observada diferença significativa quando comparada à região sem cobertura vegetal de área degradada (figura 12).

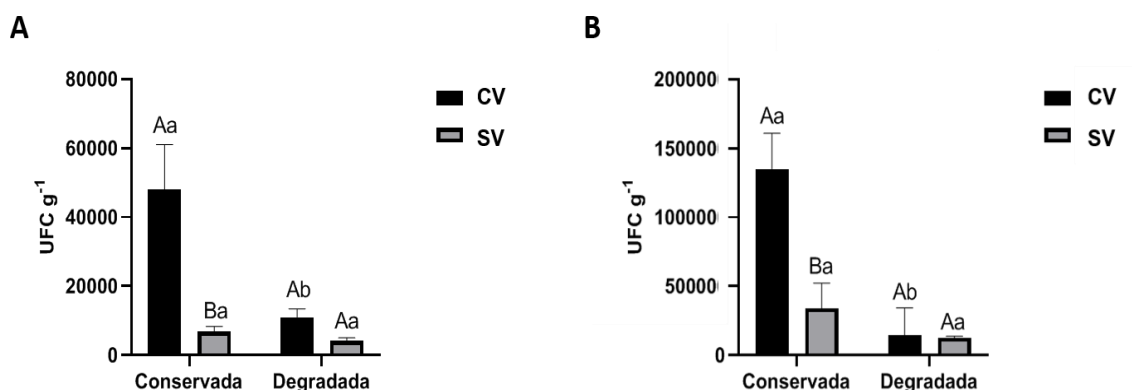


Figura 12. Densidade de bactérias solubilizadoras de fosfato (A) e densidade de bactérias fixadoras de nitrogênio por grama de solo (B), em área conservada e área degradada, com cobertura vegetal (CV) ou sem cobertura vegetal (SV) do PEPCV, Guarapari, ES. UFC = unidades formadoras de colônia. Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

Nos estudos desenvolvidos por Gao *et al.* (2019) foi descrito um maior teor de fósforo nas regiões com maior quantificação de bactérias totais, o que pode justificar os nossos resultados de densidade de bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico, em que observamos o mesmo perfil de densidade em relação à contagem bacteriana total.

Mendes e Tsai (2017) analisaram o microbioma de solos de restinga, mata Atlântica e mangue, e encontraram uma maior abundância de genes relacionados ao metabolismo de fósforo e carboidratos, além de genes relacionados a mecanismos de virulência e defesa em solos de restinga em relação aos solos de manguezais e de mata Atlântica. Ainda, segundo Pupin e Nahas (2014), a presença de microrganismos solubilizadores de fosfato em solos caracterizados por uma maior acidez, como os de restinga, é de grande importância, pois nesses solos há uma alta quantidade de fosfatos inorgânicos, principalmente, alumínio e ferro, aumentando, assim, a biodisponibilidade de fósforo solúvel para as plantas.

Segundo Pupin e Nahas (2014), a menor disponibilidade de oxigênio nas regiões mais profundas do solo favorecem a proliferação de bactérias diazotróficas. Em seu trabalho, foram quantificadas bactérias diazotróficas em solos de restinga a

uma profundidade de até 10 cm, e foram encontrados valores crescentes com o aumento da profundidade. Shay, Winder e Trofymow (2015), demonstraram uma correlação entre comunidades microbianas e fatores abióticos do solo no perfil de genes relacionados à fixação de nitrogênio (*nifH*), em que uma presença maior de um tipo de comunidade microbiana pode aumentar o teor de certos nutrientes no solo, como o carbono, que pode influenciar na quantidade de bactérias nitrificantes (*NifH*) em até 91%. Além disso, foi verificado que o pH do solo exerce grande influência negativa em bactérias *NifH*, o que pode, também, ter influenciado em nossas contagens.

3.4- Avaliações qualitativa e quantitativa da capacidade de solubilizar fosfato de cálcio

Das 96 cepas com capacidade de solubilização de fosfato, 16,3% apresentaram halos maiores que 20 mm e 34,3% apresentaram halos entre 15 e 20 mm (figura 13). O restante apresentou halos de tamanhos inferiores (<15 mm). MelvinJoe *et al.* (2018), testaram bactérias previamente isoladas de solos de diversos locais quanto a capacidade de formar halos, encontrando halos de no máximo 8,6 mm de diâmetro em presença de fosfato de cálcio, sendo que parte destas eram capazes de solubilizar fosfato de rocha e fosfato de alumínio.



Figura 13. Placas de agar NBrip com culturas de diferentes cepas bacterianas, mostrando a formação de halos de solubilização de fosfato de diferentes diâmetros.

Marra *et al.* (2015) relataram que o pH inicial do meio, apesar de afetar a produção de alguns ácidos orgânicos, não interfere na solubilização de fosfatos, porém sabe-se que a solubilização de fosfatos além de depender de uma redução do pH do meio, pela liberação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, também depende de outros fatores, como a produção de exopolissacarídeos capazes de reter fósforo, cepa de microrganismo, fonte de carbono e tipo de fosfato (Marra *et al.*, 2019; Dey *et al.*, 2021; Barrow and Lambers, 2022). Portanto, após o teste qualitativo, foi realizada a quantificação do fósforo solúvel (tabela 10), uma vez que alguns autores criticam a validade da metodologia de medição de halos, muitas vezes por sua imprecisão, além de ser um consenso que, em meios líquidos, há maior contato dos microrganismos com o fosfato insolúvel, favorecendo uma maior difusão de ácidos orgânicos e permitindo que o microrganismo demonstre todo seu potencial, além disso, em meios sólidos, pode haver precipitação do fosfato, o que o distancia da superfície do meio, onde o microrganismos está se desenvolvendo. (Marra *et al.*, 2019; Barrow and Lambers, 2022; Elhaisoufi *et al.*, 2023).

Tabela 10. Quantificação de fósforo solubilizados por cada uma das cepas testadas, após seleção de acordo com cálculo do diâmetro do halo formado no teste qualitativo.

	mg P/L
RC1NsII	0,126
CC5Bs	0,104
IC3As	0,357
CC6As	0,440
IC3Ds	0,392
IC3Gs	0,167
IC3Cs	0,096
RD3AsII	0,008
CC5AsRX	0,092
RC1KsII	0,159
RC2EsIII	0,260
RC2CsIV	0,001
RC1DsII	0,106
RC1RsII	0,314
RD1IsII	0,078
RC2HsII	0,292
RC1CsII	0,067
RC1FsII	0,072

Foram realizadas as análises de correlação (figura 14) e, assim como no trabalho desenvolvido por Melvin Joe *et al.* (2018), encontramos uma correlação positiva entre a formação e tamanho dos halos e a capacidade de solubilizar fósforo em meio líquido.

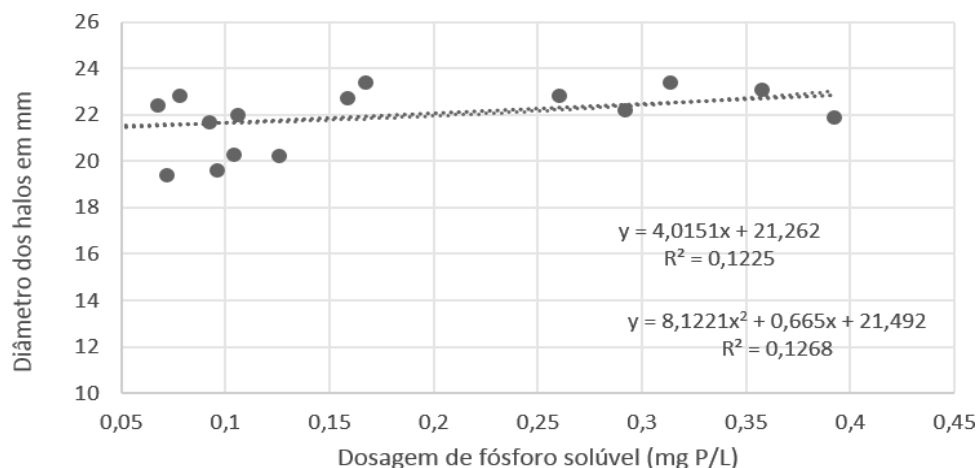


Figura 14. Gráfico de correlação entre valores encontrados de diâmetro formados devido à solubilização de fósforo em meio sólido (teste qualitativo) e valores encontrados de fósforo solubilizados em meio líquido (teste quantitativo).

Ainda, segundo Marra *et al.* (2019) uma correlação positiva significativa foi observada de forma crescente de acordo com o ácido orgânico, sendo maior na presença de glicose, que é o componente majoritário do meio NBRIP, utilizado em nosso trabalho.

3.5- Solubilização e tolerância ao zinco

Todas as cepas capazes de solubilizar fósforo foram testadas quanto à capacidade de solubilizar zinco, onde foi verificada a capacidade de solubilização de zinco em 10 isolados (8,7%), com diâmetros de variaram de 5mm a 15mm. Jerlin *et al.* (2017) pesquisaram bactérias solubilizadoras de diferentes fontes de zinco em solode áreas de manguezal, encontrando um valor próximo de 9,5% de bactérias solubilizadoras de zinco. Isto pode ser em função do tipo de fonte de zinco (ZnO) utilizada e do teste ter sido realizado em placas com meio sólido, apesar de Jerlin *et al.* (2017), em suas pesquisas, ter verificado maior eficiência na solubilização em meios contendo ZnO que nos meios preparados com ZnCO_3 e ZnSO_4 .

Em baixos níveis, o zinco desempenha um papel fundamental na nutrição das plantas, porém, se em concentrações elevadas, pode se tornar altamente tóxico, tanto para as plantas quanto para os microrganismos do solo, incluindo os solubilizantes. Em um trabalho de prospecção de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal com capacidade de bioissorver zinco em solos contaminados, foram encontradas 30 cepas bacterianas capazes de tolerar e solubilizar o ZnO na concentração de 0,25% e, destas, 12 cepas mostraram essa capacidade em presença de 2% de ZnO (Kour *et al.*, 2019). Em nossa pesquisa, os isolados bacterianos foram também submetidos ao meio NBrip com concentrações crescentes de ZnO, a partir de 0,5% e, do total, 14 isolados (87,5%) foram capazes de tolerar e solubilizar o zinco insolúvel na concentração de 0,5%. Destes, 50% foram capazes de solubilizar ZnO na concentração de até 1,75% e dois destes isolados se mostraram aptos em solubilizar ZnO na concentração de 2% (Quadro 1 e figura 15). Apesar de termos encontrado valores menores que os descritos por Kour *et al.* (2019), nossos resultados ainda podem ser considerados promissores, uma vez que a toxicidade do zinco é de relevância tanto para microrganismos quanto para plantas, seres humanos e animais (Rahimzadeh *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2021).

Quadro 1. Relação de bactérias com capacidade de solubilizar ZnO, expostas a concentrações crescentes do metal. O traço indica que não houve formação de halo de solubilização. A letra S indica que houve formação de halo de solubilização.

	Concentração de Zinco							
	0,1%	0,5%	0,75%	1%	1,25%	1,50%	1,75%	2%
RC1NsII	S	-	-	-	-	-	-	-
CC5Bs	S	S	-	-	-	-	-	-
IC3As	S	S	S	S	S	S	S	-
IC3Ds	S	-	-	-	-	-	-	-
IC3Gs	S	S	S	S	S	S	S	-
IC3Cs	S	S	S	S	S	S	S	-
RD3AsII	S	S	S	S	S	S	S	-
CC5AsRX	S	S	S	S	S	S	S	-
RC1KsII	S	S	S	S	S	S	S	S
RC2EsIII	S	S	-	-	-	-	-	-
RC1DsII	S	S	-	-	-	-	-	-
RC1RsII	S	S	-	-	-	-	-	-
RD1IsII	S	S	S	S	S	S	S	S
RC2HsII	S	S	-	-	-	-	-	-
RC1CsII	S	S	-	-	-	-	-	-
RC1FsII	S	S	-	-	-	-	-	-

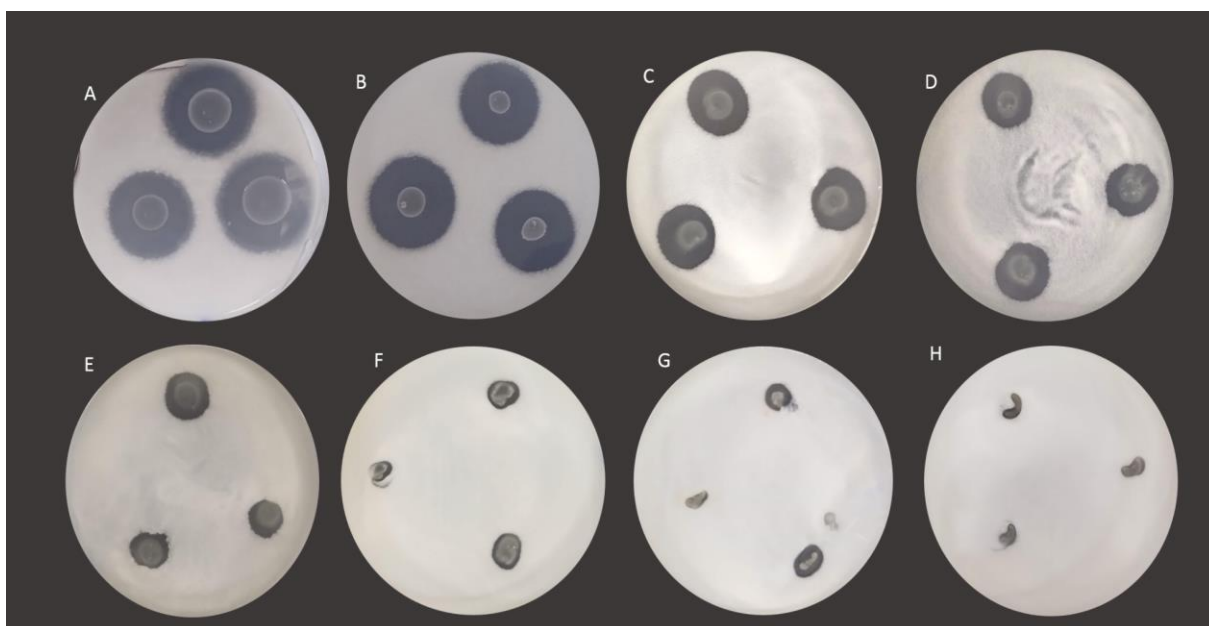


Figura 15. Placas contendo agar NBrip acrescido de diferentes concentrações de ZnO e com cultivo de bactérias solubilizadoras de zinco (formação de halos ao redor da colônia). As concentrações de ZnO foram, respectivamente: 0,1% (A), 0,5% (B), 0,75% (C), 1% (D), 1,25% (E), 1,5% (F), 1,75% (G) e 2% (H).

3.6- Solubilização de fosfato de rocha

Todas as cepas apresentaram mudança de cor do indicador presente no meio, com o pH do meio reduzindo de 7 para até pH 3, dependendo da cepa (figura 16). Segundo Bhattacharjya *et al.* (2019), a mudança de coloração do indicador indica a acidificação do meio à provável produção de ácidos orgânicos, como ácidos cítrico, lático, glucônico, 2-cetoglucônico, oxálico, glicólico, acético, málico, fumárico, succínico, tartárico, malônico, glutárico, propiônico e butírico (Kalayu, 2019; Rawat *et al.*, 2021). A redução do pH é o principal mecanismo para a solubilização de fosfatos pois, em solos alcalinos, os fosfatos podem precipitar formando fosfatos de cálcio, fluorapatita e francolita (fosfato de rocha), que são insolúveis (Kalayu, 2019; Rfaki *et al.*, 2020; Rawat *et al.*, 2021).

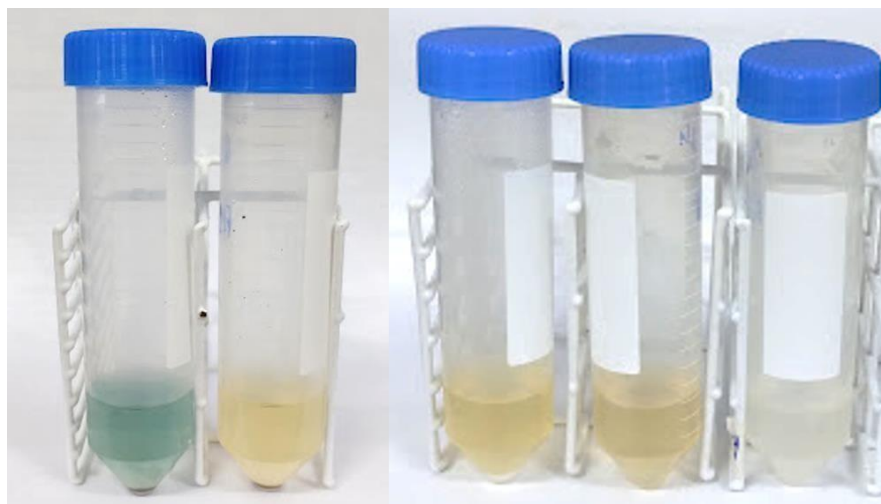


Figura 16. Tubos contendo Caldo NBrip com Fosfato de Rocha Reativo, acrescidos de de Solução de Azul de Bromotimol. No primeiro tubo, à esquerda, meio controle, sem inoculação. Nos outros tubos, de coloração amarelada, mostrando a redução do pH após crescimento bacteriano.

Segundo Rfaki *et al.* (2020), o uso de microrganismos solubilizadores de fosfato de rocha diminui consideravelmente os altos custos com fertilizantes além de solubilizar fertilizantes químicos insolúveis que são aplicados no solo, reduzindo os impactos negativos no solo. No trabalho desenvolvido por Bhattacharjya *et al.* (2019), foram encontrados apenas uma bactéria e dois fungos solubilizadores de fosfato de rocha, sendo que os fungos apresentaram um melhor desempenho neste processo. Em outro trabalho de prospecção de bactérias solubilizadoras de fosfato de rocha, após testes de triagem, foram selecionadas 29 cepas com potencial, porém só 5,5% destas realmente foram consideradas capazes de solubilizar fosfato de rocha (Rfaki *et al.*, 2020). Já com relação à prospecção de bactérias solubilizadoras de fosfato de rocha provenientes de lodo, no trabalho desenvolvido por Maharana e Dhal (2022) foram encontradas apenas três cepas com potencial para uso na agricultura, evidenciando a importância da prospecção destes microrganismos, uma vez que o seu uso na agricultura representa uma grande economia e sustentabilidade (Bhattacharjya *et al.*, 2019).

3.7- Assimilação de nitrogênio

O teste de assimilação de nitrogênio atmosférico foi realizado com todas as cepas capazes de solubilizar fosfato. Do total dos isolados, 63% deles foram positivos para o teste, que se baseia na observação da alteração da cor verde-amarelado para azul intenso (figura 17).

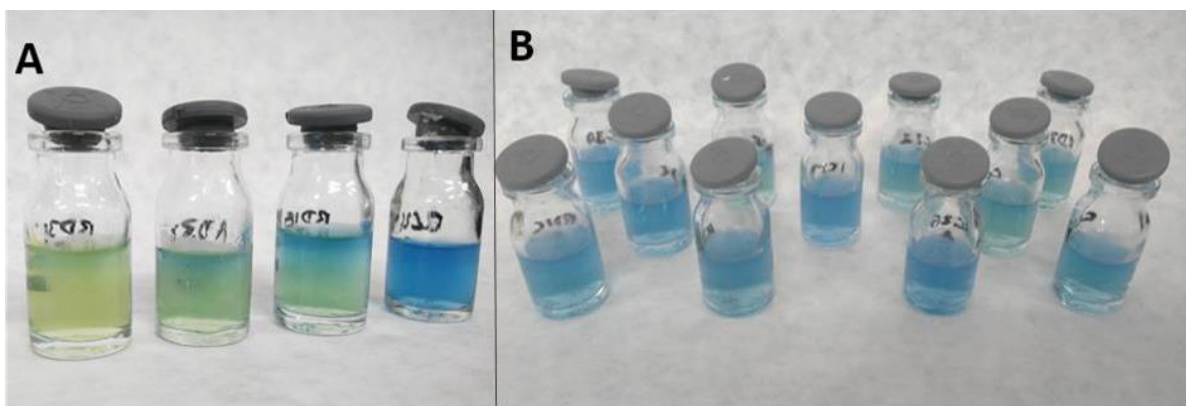


Figura 17. Teste de assimilação de nitrogênio atmosférico. Na figura A é visualizada a mudança gradativa de cor, de acordo com o desenvolvimento do microrganismo capaz de assimilar o nitrogênio e, na figura B, estão dispostos vários frascos com cepas que positivaram para esta reação.

Poly *et al.* (2001) quantificaram a presença de genes *nifH* em diferentes tipos de solo (de acordo com local, uso, granulometria, composição) e encontraram variação tanto entre os tipos de solo quanto entre os pontos de coleta dentro de cada tipo de solo, demonstrando que há uma adaptação, tanto aos fatores flutuantes quanto aos fatores constantes. Em outro trabalho também foi verificada uma forte influência das características do solo (salinidade, umidade, pH, nitrogênio total, carbono, enxofre, nitrato) na comunidade diazotrófica em solos de dunas, sendo maior o número de cópias do gene *nifH* em solos salinos (Song *et al.*, 2022).

Segundo Chakraborty e Tribedi (2019) a diversidade funcional abrange diversas características funcionais e depende tanto da riqueza microbiana quanto da sua uniformidade, facilitando a ocorrência de bactérias solubilizadoras de fosfato que também são fixadoras de nitrogênio. Portanto, a partir dos resultados obtidos com os testes em meio sólido de solubilização de fosfato, solubilização de zinco e assimilação de nitrogênio, foi gerada uma árvore por meio do índice Bray-Curtis (Figura 18). Esta

análise nos permitiu selecionar 16 cepas para dar sequência aos testes de capacidade mais específicos e caracterização morfológica e bioquímica (Quadro 2).

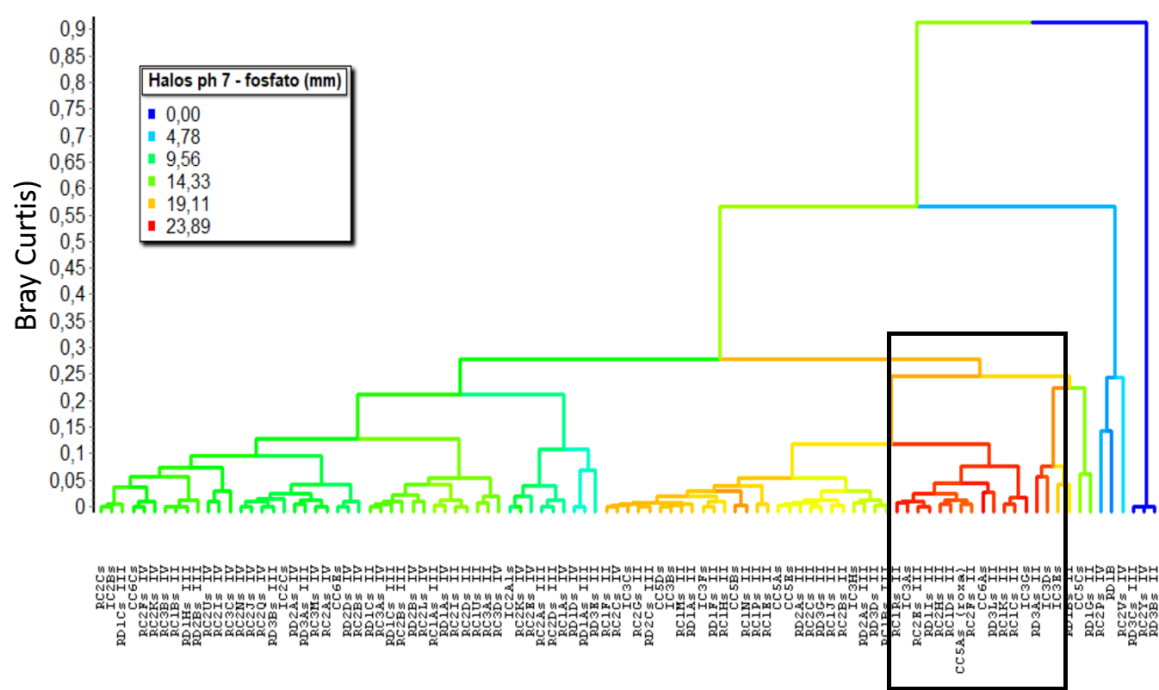


Figura 18. Análise de dendrograma gerada a partir do cruzamento dos resultados obtidos com os testes de capacidade. Em destaque (retângulo preto) estão as cepas selecionadas para testes de capacidade mais específicos e caracterização morfológica e bioquímica

Quadro 2. Relação de bactérias com os locais onde foram coletadas.

CEPA	Área de coleta	
CC5Bs	área conservada	com cobertura vegetal (solo rizosférico)
CC5AsRX		
RC2EsIII		
RC2HsII		
RC1NsII		sem cobertura vegetal
RC1KsII		
RC1DsII		
RC1RsII		
RC1CsII		
RC1FsII		
IC3As	área degradada	com cobertura vegetal (solo rizosférico)
IC3Ds		
IC3Gs		
IC3Cs		
RD3AsII		sem cobertura vegetal
RD1IsII		

3.8- Produção de ácido indol-acético (AIA)

Os testes de produção de ácido indol-acético foram realizados com as 16 cepas selecionadas pelo índice de Bray-Curtis, no qual foi possível verificar que houve produção que variaram de 0,758 µg/mL até 25,258 µg/mL como pode ser verificado na tabela 11.

Em seu trabalho, Lan *et al.* (2019), isolaram 202 bactérias do solo de região costeira nas Filipinas e, deste total, 10 cepas se mostraram produtoras de AIA, tendo sido caracterizadas como Gram negativas. No seu trabalho também foi verificado que, quando o meio era suplementado com 3% ou 5% de NaCl, algumas cepas eram capazes de aumentar sua produção de AIA apresentando produção variando desde 33,05 mg/ml a 61,82 mg/ml. Já no trabalho desenvolvido por Joshi, Kumar e Brahmachari (2021), com prospecção de bactérias de dunas, foram encontradas cinco cepas com produção de AIA variando entre 0,054 a 0,183 g/L.

Tabela 11. Quantificação de produção de ácido indol-acético por cada uma das cepas testadas, após seleção de acordo com o índice de Bray-Curtis.

	Indois µg/mL (com trip)
RC1NsII	5,804
CC5Bs	10,996
IC3As	2,042
IC3Ds	2,625
IC3Gs	4,317
IC3Cs	1,954
RD3AsII	11,929
CC5AsRX	6,388
RC1KsII	0,758
RC2EsIII	16,596
RC1DsII	25,258
RC1RsII	5,950
RD1IsII	18,054
RC2HsII	11,900
RC1CsII	16,567

3.9- Caracterização bioquímica e coloração de Gram

Todos os isolados se apresentaram como bacilos Gram-negativos, positivos para o teste de Lisina, Ornitina e Citrato, assim como para o teste de utilização de Malonato como única fonte de carbono e negativos para Oxidase e produção de H₂S. Do total, 44% foram positivos para catalase, 13% positivos para o teste de Indol, 94% positivos para o teste de ONPG, 34% fermentadores de Lactose, 63% positivos para a prova de produção de Acetoína a partir da fermentação da Glicose, 63% hidrolisam Arginina, 25% hidrolisam a Uréia. Quanto à utilização de um tipo de carboidrato como única fonte, todos as cepas foram positivas quanto à utilização de Arabinose, 69% positivas quanto à utilização de Sorbitol e Manitol, 56% positivas quanto à utilização de Adonitol, 50% positivas para utilização de Sacarose e 38% positivas para os testes de assimilação de Ramnose, Salicina e Rafinose (quadro 3).

Quadro 3. Características bioquímicas dos isolados bacterianos.

	GRAM	Cat	Oxi	Lac	ONPG	Arginina	Lisina	Ornitina	H2S	Ureia	Glicose	Indol	Citrato	Malonato	Ramnose	Adonitol	Salicina	Arabinose	Inositol	Sorbitol	Sacarose	Manitol	Rafinose
RC1NsII	negativo	+	N	N	+	+	+	+	N	N	+	N	+	+	N	+	N	+	+	+	N	+	N
CC5Bs	negativo	+	N	N	+	+	+	+	N	N	+	+	+	+	N	+	N	+	N	N	N	N	N
IC3As	negativo	N	N	+	+	N	+	+	N	N	+	N	+	+	+	N	+	+	N	+	+	+	+
IC3Ds	negativo	+	N	N	+	+	+	+	N	+	N	N	+	+	N	+	N	+	+	+	N	+	N
IC3Gs	negativo	N	N	+	+	N	+	+	N	N	N	N	+	+	+	N	+	+	N	+	+	+	+
IC3Cs	negativo	N	N	+	+	N	+	+	N	N	+	N	+	+	+	N	+	+	N	+	+	+	+
RD3AsII	negativo	N	N	+	+	N	+	+	N	N	+	N	+	+	+	N	+	+	N	+	+	+	+
CC5AsRX	negativo	N	N	+	+	N	+	+	N	N	+	N	+	+	+	N	+	+	N	+	+	+	+
RC1KsII	negativo	N	N	+	+	N	+	+	N	N	+	N	+	+	+	N	+	+	N	+	+	+	+
RC2EsII	negativo	+	N	N	+	+	+	+	N	+	+	N	+	+	N	+	N	+	N	N	N	N	N
RC1DsII	negativo	+	N	N	+	+	+	+	N	N	N	N	+	+	N	+	N	+	N	N	N	N	N
RC1RsII	negativo	+	N	N	+	+	+	+	N	+	N	+	+	+	N	+	N	+	N	N	N	N	N
RD1IsII	negativo	N	N	N	+	+	+	+	N	+	N	N	+	+	N	+	N	+	N	+	+	+	N
RC2HsII	negativo	N	N	N	+	+	+	+	N	N	+	N	+	+	N	+	N	+	+	+	+	+	N
RC1CsII	negativo	N	N	N	N	+	+	+	N	N	+	N	+	+	N	+	N	+	+	+	N	+	N
RC1FsII	negativo	+	N	N	+	+	+	+	N	N	N	N	+	+	N	N	N	+	N	N	N	N	N

De forma interessante, Chodak *et al.* (2015), descreveram que bactérias Gram positivas apresentam melhor tolerância à solos ácidos, assim com o Kooijman *et al.* (2020) que encontraram uma maior proporção de bactérias Gram- positivas em dunas ácidas, porém essa microbiota do solo pode não depender das suas características intrínsecas, mas também à sua capacidade de adaptação, principalmente, frente a estressores abióticos, como seca, reumedecimento do solo, metais pesados e pH (Chodak *et al.*, 2015).

3.10- Sensibilidade a antimicrobianos

Foi realizado o teste de disco-difusão em placa para verificação do perfil de sensibilidade às principais classes microbianas. Todas as cepas demonstraram sensibilidade ao Cotrimoxazol (Sulfametoxazol - Sulfadiazina associada à Trimetoprima) e à Ciprofloxacina. Do total, 81% foram sensíveis ao Cloranfenicol, 69% sensíveis à Estreptomicina e Ceftriaxona, 56% à Azitromicina, 37% ao Imipenem 31% sensíveis à Tetraciclina (Figura 19 e Tabela 12).



Figura 19. Testes de disco-difusão em ágar demonstrando perfis variados de sensibilidade das nossas cepas aos antibióticos testados.

Com base no perfil de multirresistência, de 3 a 5 antibióticos, 70% das cepas provenientes da área conservada, apresentaram este perfil, e destas, 86% são cepas provenientes da área de coleta de solo sem cobertura vegetal (Tabela 12).

Tabela 12. Medidas dos halos (mm) encontrados no teste de disco-difusão em ágar. Os quadros destacados em cinza indicam valores considerados abaixo do limite mínimo de sensibilidade, de acordo com a tabela padrão do CSLI (2018). AZI (Azitromicina), EST (Estreptomicina), CRO (Ceftriaxona), SUT (Sulfametoxazol), CLO (Cloranfenicol), CIP (Ciprofloxacina), IMP (Imipenem), TET (Tetraciclina).

	AZI	EST	CRO	SUT	CLO	CIP	IMP	TET
RC1NsII	26	20	0	33	27	33	10	0
CC5Bs	22	0	34	25	23	27	0	0
IC3As	0	38	24	17	13	38	0	23
IC3Ds	27	22	0	23	25	39	0	10
IC3Gs	18	18	23	24	12	29	25	16
IC3Cs	15	17	24	27	16	27	25	9
RD3AsII	0	19	26	24	14	29	32	21
CC5AsRX	0	18	24	14	0	28	31	19
RC1KsII	0	16	22	21	10	30	29	11
RC2EsIII	33	14	42	25	28	37	38	19
RC1DsII	10	0	0	22	21	40	0	11
RC1RsII	23	22	16	18	20	40	0	14
RD1IsII	16	0	16	31	24	30	11	8
RC2HsII	28	19	0	29	30	34	13	10
RC1CsII	17	0	0	17	13	33	0	0
RC1FsII	18	0	14	16	20	25	12	0

A resistência intrínseca apresentada por bactérias provenientes do solo pode variar bastante, muitas vezes devido à transferência horizontal de genes de resistência e à capacidade de adaptação, além do fato de poder existir uma influência positiva na presença de cobertura vegetal, contribuindo para uma população microbiana equilibrada. Porém estressores abióticos podem ativar mecanismos de respostas ao estresse e aumentar a expressão de genes de resistência a antibióticos ou mesmo a aquisição de novos genes (Iwu, Korsten and Okoh, 2020; Nguyen *et al.*, 2020; Perry, Meirelles and Newman, 2022), como evidenciado no trabalho de Mendese Tsai (2018) onde verificaram uma maior presença de genes de virulência e de respostas de defesa em solo de restinga.

Em seu trabalho, Nguyen *et al.* (2020) discutiram a como as interações biológicas no solo são potenciais condutores de resistência a antibióticos em ambientes de baixa influência antropogênica, principalmente levando-se em conta, o desenvolvimento de resistência cruzada a antibióticos frente a estressores, inclusive de origem predatória por parte de outros protistas. Muitas vezes cepas bacterianas,

presentes em ambientes com nenhuma ou limitada influência antropogênica, podem produzir metabólitos antimicrobianos, ou desenvolver outras formas de autoproteção, devido à competição por espaço ou nutrientes com outros organismos, incluindo plantas, desenvolvendo, desta forma, mecanismos de resistência inclusive para se protegerem dos efeitos tóxicos de seus próprios metabólitos e de outras espécies (Zhu *et al.*, 2019; Nguyen *et al.*, 2020). Além dos fatores bióticos influenciarem diretamente, acredita-se que os estressores abióticos também influenciam no equilíbrio do ambiente, estimulando a evolução e proliferação de bactérias resistentes a antimicrobianos (Zhu *et al.*, 2019; Nguyen *et al.*, 2020).

3.11- Tolerância à salinidade, variações de temperatura, pH e atmosfera

Em nossos ensaios de tolerância à salinidade, 69% dos nossos isolados apresentaram uma boa resposta de crescimento de acordo com a elevação da concentração de NaCl no meio, porém a cepa RC1KsII se mostrou tolerante à presença de 6% de NaCl no meio (figura 20).

A salinidade tem sido considerada um dos principais fatores que regulam a comunidade bacteriana associada às raízes das halófitas portanto, acredita-se que, os microbiomas de plantas sob estresse salino forneçam microrganismos aptos à neutralização dos efeitos nocivos do estresse salino nas culturas cultivadas (Slama *et al.*, 2023).

Vu *et al.* (2022) descreveram em suas pesquisas com microrganismos provenientes de dunas halófitas, uma forte correlação entre a abundância de várias espécies bacterianas com a salinidade e o conteúdo mineral do solo, sugerindo que existe uma resposta de bactérias promotoras de crescimento vegetal de acordo com as mudanças na salinidade e no conteúdo mineral do solo. Além disso, trabalhos vêm demonstrando que essa resposta não se restringe apenas às plantas-hospedeiras halófitas naturais, podendo haver interação com plantas cultivadas promovendo, além da tolerância ao estresse salino, às deficiências minerais, principalmente com relação à deficiência de fósforo, zinco, potássio, nitrogênio e ferro (Sharma, Kulkarni and Jha, 2016; Xiong *et al.*, 2019; Vu *et al.*, 2022; Slama *et al.*, 2023), além de promover o crescimento, por meio da produção de hormônios, como o ácido indol-acético, e

equilibrar a ação de fitormônios ligados ao estresse salino como 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) e ácido abscísico (Slama *et al.*, 2023).

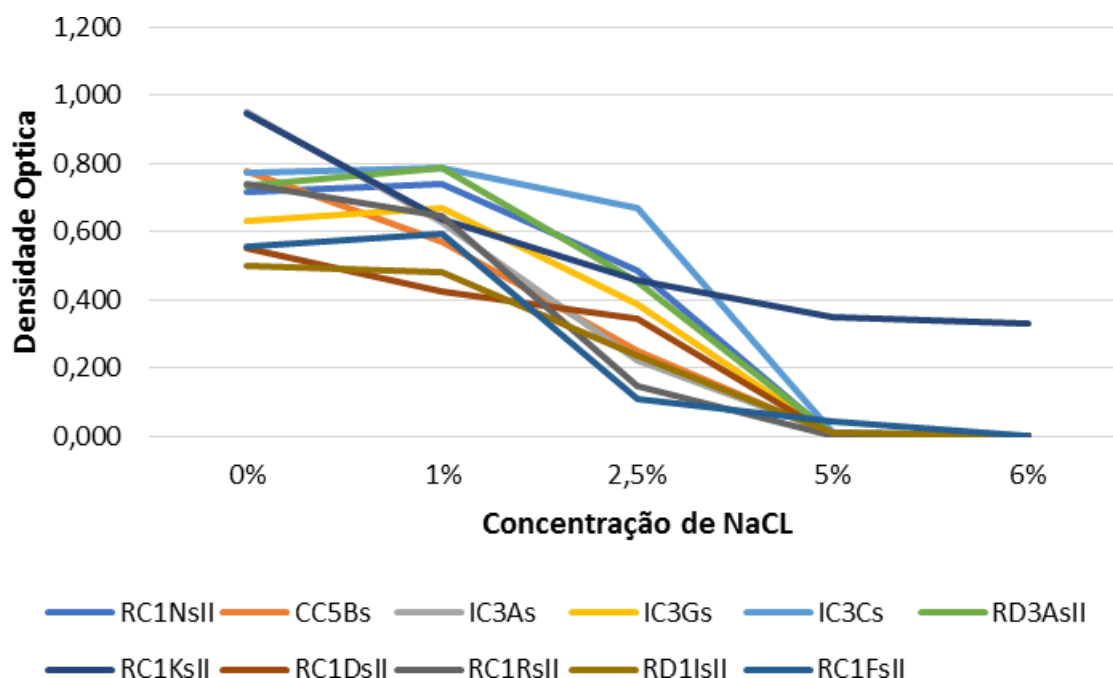
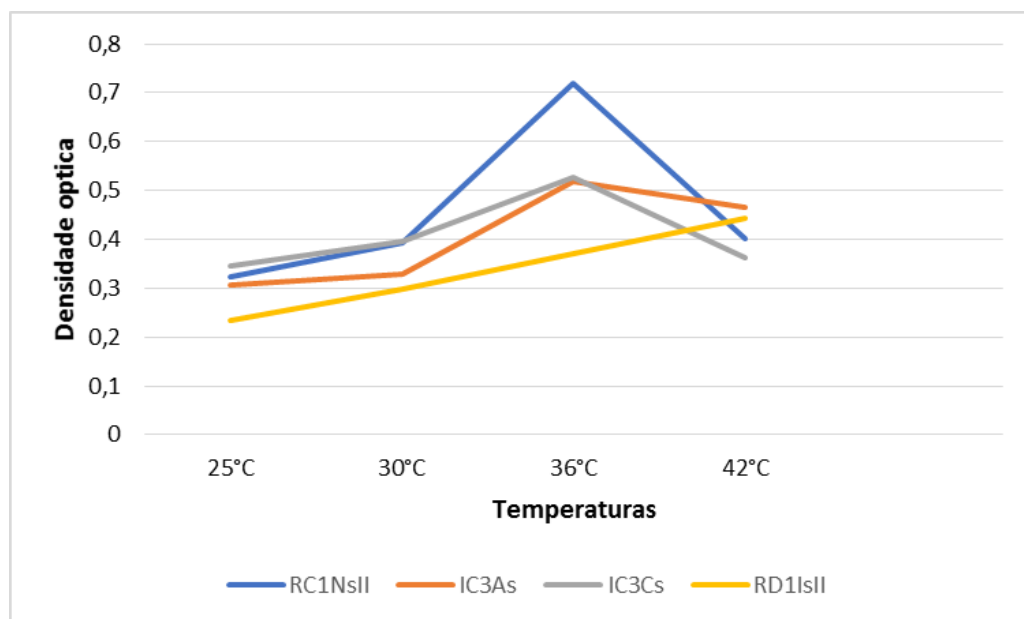


Figura 20. Gráfico de curva de tolerância à salinidade as cepas bacterianas que se apresentaram com melhor desempenho. Para melhor visualização, foram excluídas as cepas com menor desempenho.

Todas as cepas testadas se desenvolveram bem, mesmo com o aumento gradativo da temperatura, sendo que as cepas IC3As e RD1IsII se destacaram por suportar a temperatura de 42°C (figura 21).



Figura

21. Gráfico de curva de tolerância à variação de temperatura das cepas bacterianas que se apresentaram com melhor desempenho. Para melhor visualização, foram excluídas as cepas com menor desempenho.

Reid, Howes e Emery. (2019), relataram que a temperatura exerce forte influência sobre a comunidade bacteriana, e de suas funções fisiológicas. Bárcenas-Moreno *et al.* (2009) desenvolveram um estudo, submetendo solo e microrganismos provenientes destes solo a aumentos gradativos de temperatura, demonstrando que, isoladamente há uma queda rápida das funções dos fungos e uma queda mais gradativas das funções bacterianas frente ao aumento de temperatura até 35°C, enquanto que, quando houve o aumento gradativo do solo, houve uma adaptação melhor dos microrganismos, alcançando a temperatura de 50°C. No trabalho de Nottingham *et al.* (2019), foi demonstrado que o aumento gradual da temperatura influencia diretamente na velocidade de crescimento bacteriano, onde um aumento de 6°C aumenta a adaptação bacteriana em 1,2%, se tornando, essa adaptação, mais evidente em locais com menor temperatura ambiente.

Quanto à tolerância à variação de pH, 88% das nossas amostras se desenvolveram em meio ácido (pH 4), assim como em meio alcalino (pH 8) também encontramos 88% das cepas com crescimento, sendo que a cepa RC1KsII conseguiu tolerar o meio com o pH 10 (figura 22).

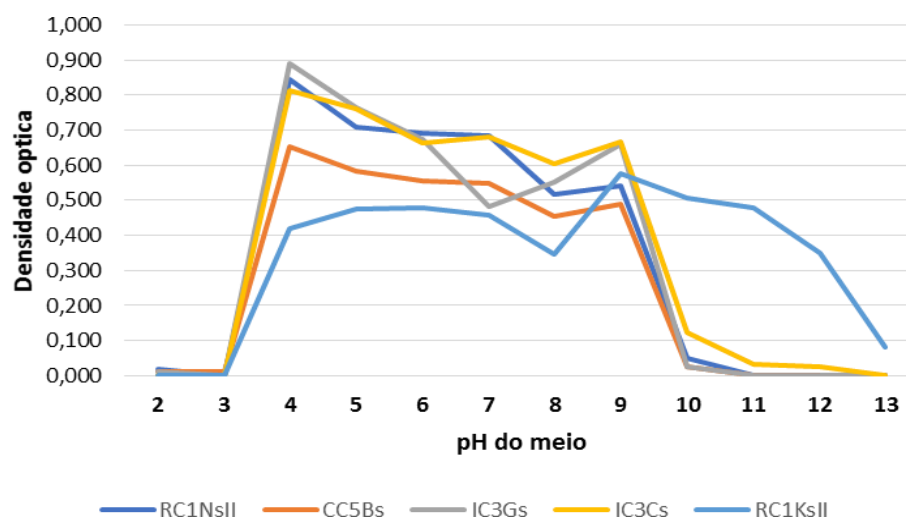


Figura 22. Gráfico de curva de tolerância à variação de pH das cepas bacterianas que se apresentaram com melhor desempenho. Para melhor visualização, foram excluídas as cepas com menor desempenho.

Ainda se sabe pouco sobre a influência do pH sobre a ação de exoenzimas relacionadas à ciclagem de carbono, nitrogênio e fósforo e o quanto este fator é mediado pelas comunidade microbianas, porém Puissant *et al.* (2019) demonstraram que existe uma resposta adaptativa das mudanças da comunidade microbiana ao solo, havendo produção de diferentes versões da mesma enzima, deacordo com o pH.

Todas as cepas de desenvolveram tanto em presença de oxigênio, quanto em atmosfera de microaerofilia e anaerobiose. Isto pode ser explicado pelo fato de todas serem assimiladoras de nitrogênio, o que implica no fato da expressão das proteínas ser realizada em ausência ou baixa concentração de oxigênio, devido à sua alta sensibilidade ao oxigênio (Pupin and Nahas, 2014; Bennett, Murray and Isalan, 2023). Em condições de presença de oxigênio, a expressão dos genes *nifH* é geralmente reprimida para evitar danos à nitrogenase, havendo ativação de mecanismos de regulação negativa que inibem a transcrição dos genes *nifH* e a produção do complexo enzimático (Bennett, Murray and Isalan, 2023).

3.12- Compatibilidade entre as cepas prospectadas e com outros microrganismos promotores de crescimento vegetal

Todas as cepas demonstraram compatibilidade entre elas e com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (figura 23). Apenas uma cepa (IC3Ds) apresentou

compatibilidade com o fungo endofítico *Serendipita indica* (figura 24). A capacidade de promover crescimento em plantas do fungo *S. indica* está bem estabelecida, porém têm-se realizados vários estudos sobre o efeito sinérgico da associação deste microrganismo com bactérias promotoras de crescimento, como *Azotobacter* sp., *Sinorhizobium* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp. e *Agrobacterium* sp. aumentando o crescimento vegetal, modulando os efeitos tóxico de altas concentrações de zinco e resposta ao estresse hídrico e aumentando a biomassa das plantas (Dabral *et al.*, 2020; Jangir *et al.*, 2021; Tabande *et al.*, 2022).

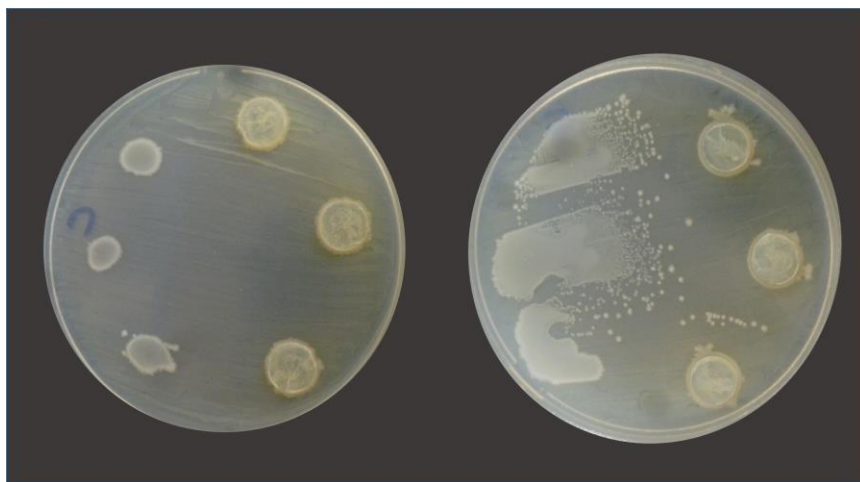


Figura 23. Fotos das placas de teste de compatibilidade entre as cepas bacterianas prospectadas e bactéria *Herbaspirillum seropedicae*. Foi realizada a cultura em placas com agar KM por meio do uso de swabs da bactéria *H. seropedicae* seguida da inoculação das cepas isoladas por meio de microgotas e por disposição de discos previamente inoculados com a mesma para a verificação de possível halo de inibição, o que não ocorreu.

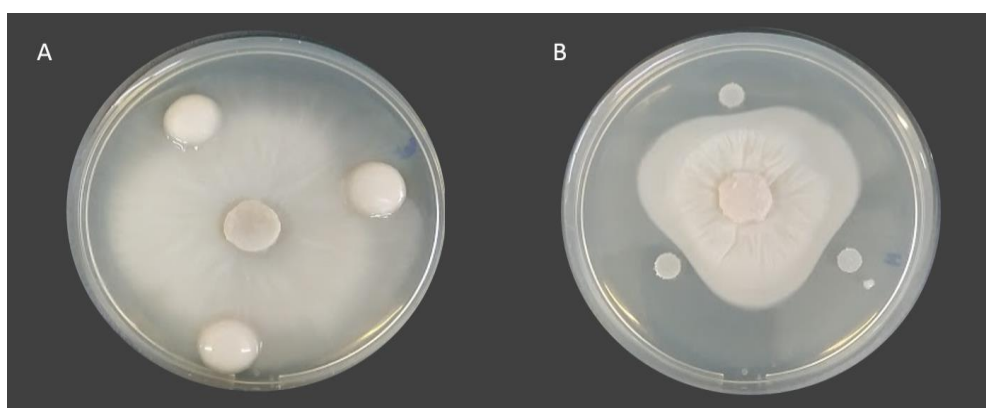


Figura 24. Fotos das placas de teste de compatibilidade entre as cepas bacterianas prospectadas e o fungo *Serendipita indica*. À esquerda (A), placa com resultado positivo mostrando crescimento abundante tanto do fungo (inoculado ao centro) quanto da cepa testada (inoculada em três pontos à margem da placa. À direita (B),

placa com resultado negativo ao teste de compatibilidade, mostrando baixo desenvolvimento tanto do fungo quanto da cepa testada.

Todas as cepas testadas apresentaram compatibilidade com o fungo *Trichoderma sp.* (figura 25). O *Trichoderma* é um gênero de fungos muito utilizado na promoção de crescimento vegetal e controle biológico de fitopatógenos e a sua associação com outros microorganismos promotores de crescimento têm demonstrado efeitos sinérgicos positivos na agricultura, principalmente com bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Azotobacter* como o aumento da biomassa vegetal, aumento do crescimento radicular além do aumento da resistência aos estressores abióticos e bióticos (El-Sharkawy *et al.*, 2021; Poveda and Eugui, 2022; Tyśkiewicz *et al.*, 2022).

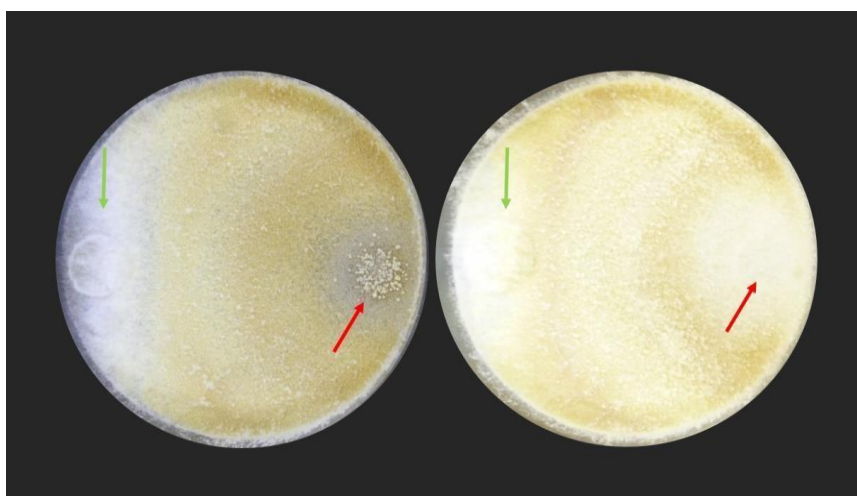


Figura 25. Fotos das placas de teste de compatibilidade entre as cepas bacterianas prospectadas e o fungo *Trichoderma sp.* Setas verdes indicam ponto onde foi disposto o disco inoculado com as cepas bacterianas e as setas vermelhas indicam o local onde foi inoculado o fungo. Houve o crescimento normal das cepas bacterianas e do crescimento radial do fungo que cobriu os discos nas duas placas.

3.14- Capacidade de inibição de fungos fitopatógenos

Apesar do reconhecimento da importância na avaliação da porcentagem de inibição de crescimento micelial, o cálculo o IVM se torna de maior relevância quando se leva em consideração o controle biológico, pois este reflete a velocidade de

colonização do fitopatógeno, portanto, se há uma redução neste índice, há uma boa indicação de um possível biocontrole (Medeiros, Silva and Pascholati et al, 2018).

Todas as cepas testadas contra o *Botrytis cinerea*, apresentaram alguma redução tanto do desenvolvimento da colônia (PIC), quanto do índice de velocidade de crescimento micelial (IVM), sendo que a menor redução do IVM foi calculada em 32%, enquanto que, deste total sete foram capazes de reduzir o IVM em mais de 50% e, por consequência, obtiveram os melhores resultados em relação à porcentagem de inibição (figura 26 e tabela 13). Os halos de inibição formados variaram, de acordo com a cepa, de 2mm a 6mm.

O *B. cinerea* é um fitopatógeno de ocorrência mundial que pode afetar as mais diversas espécies, incluindo cultivares e plantas ornamentais, uma vez que, além de ter alta velocidade de propagação, pode colonizar tanto tecidos vivos quanto mortos. As perdas em lavouras causadas por este patógeno são estimadas em milhões de dólares por ano, podendo chegar a alcançar perdas que variam de 10 a 70% tanto pré-colheita, quanto pós colheita. Se incluir nos custos os investimentos para controle, as perdas podem passar de 1 bilhão por ano (Dean *et al.*, 2012; Yahaya *et al.*, 2019; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2023).

Quando o desafio foi realizado contra o *Curvularia pallescens*, oito cepas diminuíram o IVC em mais de 50%, porém destas, apenas seis apresentaram PIC acima de 50% (figura 26 e tabela 13). Muito conhecido por causar problemas em culturas de cereais e gramíneas, pode causar vários sintomas dependendo da espécie e variedade de planta afetada, sendo alguns dos sintomas comuns as manchas foliares marrons ou roxas, necrose tecidual, malformações e crescimento reduzido (Kumar and Srivastava, 2020; Soesanto *et al.*, 2020).

Nove cepas diminuíram o IVM do fungo *Alternaria alternata* em mais de 30%, e todas elas reduziram a PIC em mais de 50%, formando halos com média de 5mm de diâmetro (figura 26 e tabela 13). *Alternaria alternata* é muito conhecido por causar doenças em culturas como tomate, batata e frutas cítricas, assim como em plantas ornamentais e, apesar da variação de sintomas de acordo com a planta afetadas, os principais sintomas incluem manchas foliares características com um centro necrótico circundado por um halo amarelo ou marrom, murcha, podridão e escurecimento dos tecidos infectados (Soesanto *et al.*, 2020; Balamurugan and Kumar, 2023)

De modo geral, os resultados dos cálculos de PIC frente ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides* foram menos expressivos, porém a RC2HsII foi capaz de reduzir em 100% o IVM do fungo, formando um halo de inibição com média de 5,3mm (figura 26 e tabela 13). Muito conhecido por causar a antracnose, o *C. gloeosporioides* bem como outras espécies deste gênero apresentam grande importância na agricultura, principalmente em local de alta temperatura umidade, causando, inicialmente, manchas avermelhadas nos frutos, seguido da formação de manchas puntiformes escuras e salientes que levam ao enrugamento dos frutos causando graves perdas econômicas na lavoura (Dean *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2022).

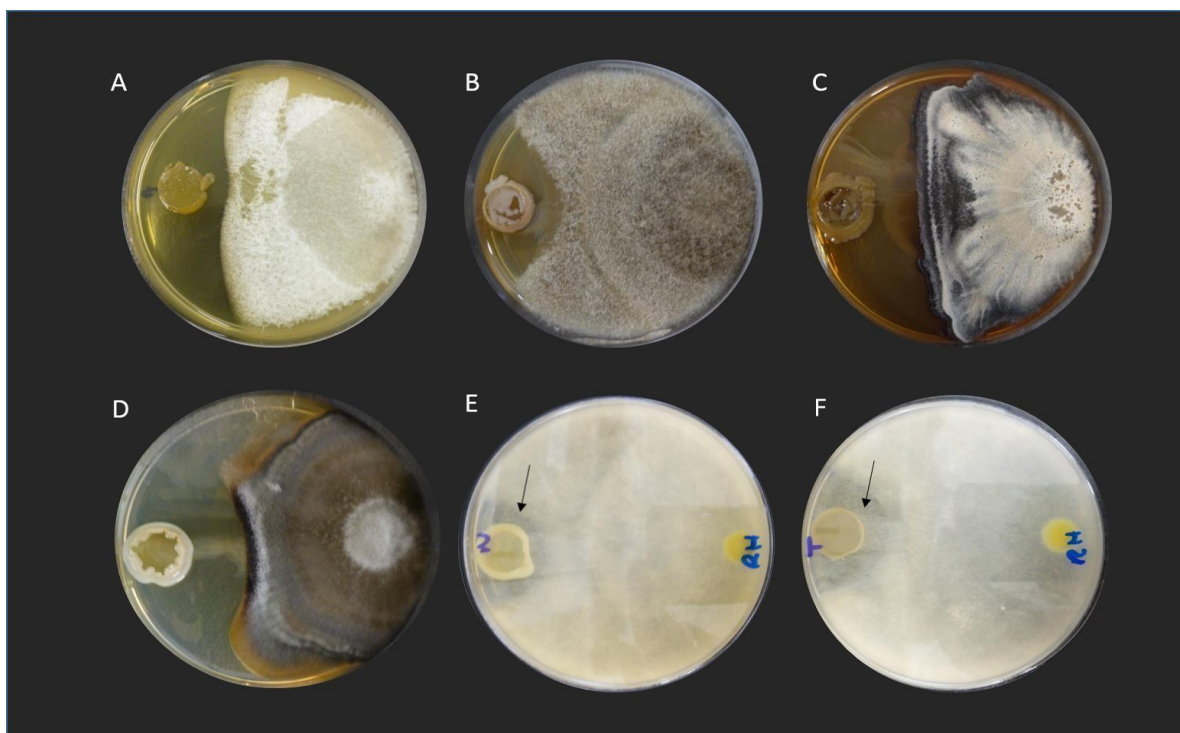


Figura 26. Placas de teste de inibição. Na letra A é possível visualizar a inibição do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Na letra B, inibição do fungo *Botrytis cinerea*. Na letra C é possível visualizar a inibição do fungo *Alternaria alternata*. Na letra D, inibição do fungo *Curvularia pallescens*. Nas letras E e F, é possível visualizar, pelo reverso das placas, os halos de inibição (setas pretas) formados contra o fungo *Rhizopus stolonifer*.

Apenas três cepas foram capazes de reduzir o IVM do *Rhizopus stolonifer* em mais de 40%, com formação de halos que variaram de 4,1mm a 6,6mm (figura 26 e tabela 13). De menor importância econômica na agricultura, o *R. stolonifer* pode colonizar uma variedade grande de plantas, invadindo o tecido hospedeiro por meio de ferimentos pré-existentes, causando podridão dos frutos, permanecendo apenas

a cutícula, já tendo sido descrito em tomates, maracujá, morango e, mais recentemente, em jaca (Li *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2019; Haque *et al.*, 2023).

Embora tenhamos encontrado valores acima de 50% no cálculo da PIC, nenhuma das cepas apresentou porcentagem acima de 25% na diminuição do IVM frente ao fungo *Phoma betae* (figura 26 e tabela 13). Conhecidos por serem as espécies de fitopatógenos mais prevalentes, os fungos do gênero *Phoma* são capazes de causar sérias perdas econômicas nas mais diferentes espécies de plantas, como cebola, beterraba, feijão, alface, cucurbitáceas por exemplo, causando manchas necróticas nas raízes e partes aéreas, levando à morte da planta, provocando perdas econômicas substanciais (Soesanto *et al.*, 2020; Avila-Quezada and Rai, 2022; Sultana and Hossain, 2022)

Apesar de ser uma prática comum, o uso prolongado e indiscriminado de antifúngicos na agricultura podem levar à resistência dos fitopatógenos, além de

Tabela 13: Valores de Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), valores dos índices de velocidade de crescimento micelial (IVC) e porcentagem de redução do índice de velocidade de crescimento micelial (PrIVM) de cada fitopatógeno frente a cada uma das cepas.

	<i>B. cinerea</i>			<i>C. pallescens</i>			<i>A. alternata</i>			<i>C. gloeosporioides</i>			<i>R. stolonifer</i>			<i>P. betae</i>		
	PIC	IVM	PrIVM	PIC	IVM	PrIVM	PIC	IVM	PrIVM	PIC	IVM	PrIVM	PIC	IVM	PrIVM	PIC	IVM	PrIVM
controle	-	11,25		-	4,87		-	4,06		-	5,33		-	24,33		-	3,38	
RC1NsII	34%	5,30	53%	19%	4,08	16%	86%	2,69	34%	26%	3,62	32%	0%	24,25	0%	59%	2,50	26%
CC5Bs	11%	7,10	37%	39%	2,23	54%	53%	2,91	28%	14%	4,85	9%	0%	24,25	0%	32%	3,18	6%
IC3As	19%	6,50	42%	38%	3,03	38%	72%	3,40	16%	18%	4,40	17%	0%	24,25	0%	55%	3,03	10%
IC3Ds	8%	7,33	35%	13%	2,21	55%	56%	3,80	6%	32%	4,53	15%	0%	24,25	0%	32%	2,75	19%
IC3Gs	15%	6,80	40%	16%	4,73	3%	55%	2,85	30%	33%	4,50	16%	0%	24,25	0%	32%	2,96	13%
IC3Cs	18%	6,57	42%	63%	1,96	60%	55%	2,82	31%	5%	5,15	3%	0%	24,25	0%	54%	3,17	6%
RD3AsII	5%	7,63	32%	63%	2,00	59%	53%	2,96	27%	0%	4,65	0%	0%	24,25	0%	36%	2,86	15%
CC5AsRX	15%	6,83	39%	62%	2,12	57%	54%	2,85	30%	3%	4,65	0%	0%	24,25	0%	57%	2,83	16%
RC1KsII	34%	5,25	53%	53%	2,62	46%	85%	2,72	33%	9%	5,15	3%	0%	24,25	0%	32%	3,17	6%
RC2EsIII	36%	5,12	55%	26%	4,00	18%	51%	3,06	25%	16%	4,65	13%	0%	24,25	0%	38%	3,07	9%
RC1DsII	33%	5,40	52%	62%	2,09	57%	56%	2,77	32%	19%	4,72	11%	0%	24,25	0%	31%	2,77	18%
RC1RsII	35%	5,17	54%	67%	2,18	52%	56%	2,81	31%	11%	4,85	9%	27%	14,63	40%	30%	3,33	1%
RD1IsII	29%	5,67	50%	29%	3,69	24%	56%	3,69	9%	30%	4,00	25%	27%	14,67	40%	49%	3,36	1%
RC2HsII	31%	5,53	51%	34%	2,69	45%	57%	2,74	32%	35%	0,00	100%	0%	24,25	0%	32%	2,97	12%
RC1CsII	23%	6,13	45%	7%	4,83	1%	86%	2,76	32%	9%	4,67	12%	0%	24,25	0%	37%	2,57	24%
RC1FsII	29%	5,70	49%	50%	2,08	57%	52%	3,10	24%	25%	4,23	21%	28%	14,50	40%	27%	3,33	1%

representar um alto custo na manutenção e prevenção da ocorrência de pragas (Brauer *et al.*, 2019; Scortichini, 2022). O controle biológico, além de ser uma alternativa de menor custo, seja por usar os agentes vivos ou seus metabólitos, já se mostrou capaz de produzir baixos impactos no ambiente, assim como, efeitos positivos de longo prazo sobre algumas doenças (Wei *et al.*, 2015; Scortichini, 2022).

3.14- Tolerância à presença de glifosato

Metade das cepas demonstraram tolerar a presença de glifosato a uma concentração de 10%. Destas, seis cepas suportam o aumento da concentração para 12,5% e, apenas a RC2EsIII suportou a concentração de 25% no meio de cultura (figura 27).

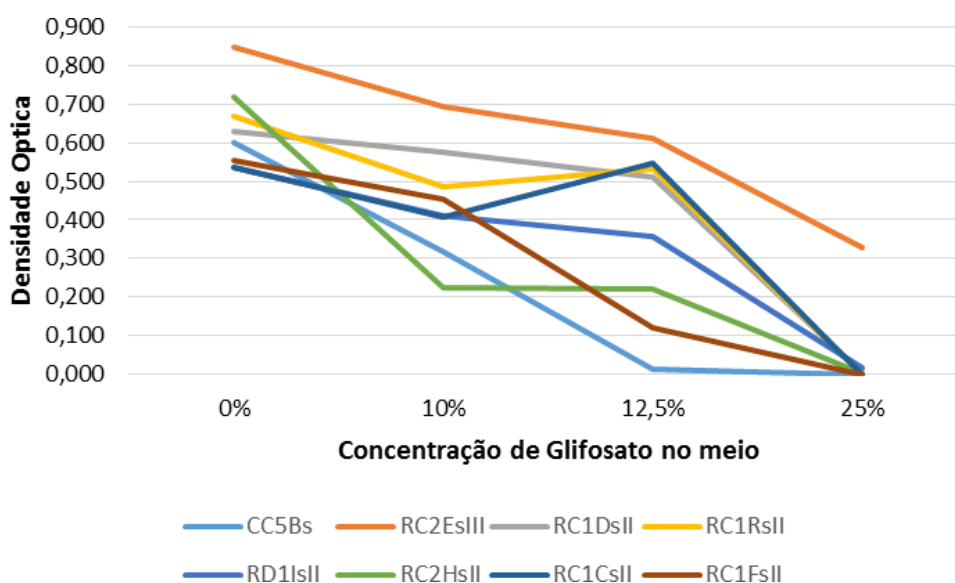


Figura 27. Gráfico da curva de tolerância ao Glifosato. Para melhor visualização, foram excluídas as cepas com menor desempenho.

O glifosato (N-(fosfonometil)glicina) é um herbicida amplamente utilizado na agricultura para o controle de ervas daninhas, porém, devido à sua pouca especificidade, atinge outros tipos de plantas, incluindo microrganismos do solo. Sua ação se deve à inibição da enzima EPSPS (5- enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase), responsável pela catalização da síntese dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, além de atuar inibindo a produção de clorofila (Priyanto *et al.*, 2020).

Uma superexpressão da enzima EPSPS pode levar a um perfil de resistência antimicrobiana assim como o inverso pode ocorrer e, por haver uma maior proporção de bactérias Gram negativas com perfil de resistência e multirresistência (pelo seu potencial para sofrer mutações e sua ampla capacidade de compartilhar elementos móveis de DNA), muitos trabalhos vêm tentando correlacionar esses dois perfis de resistência (Barroso *et al.*, 2018; Hertel *et al.*, 2021; Barbosa da Costa *et al.*, 2022; Patriarcheas, Momtareen and Gallagher, 2023), porém no nosso trabalho não encontramos correlação entre a tolerância ao glifosato e o perfil de resistência (figura 28).

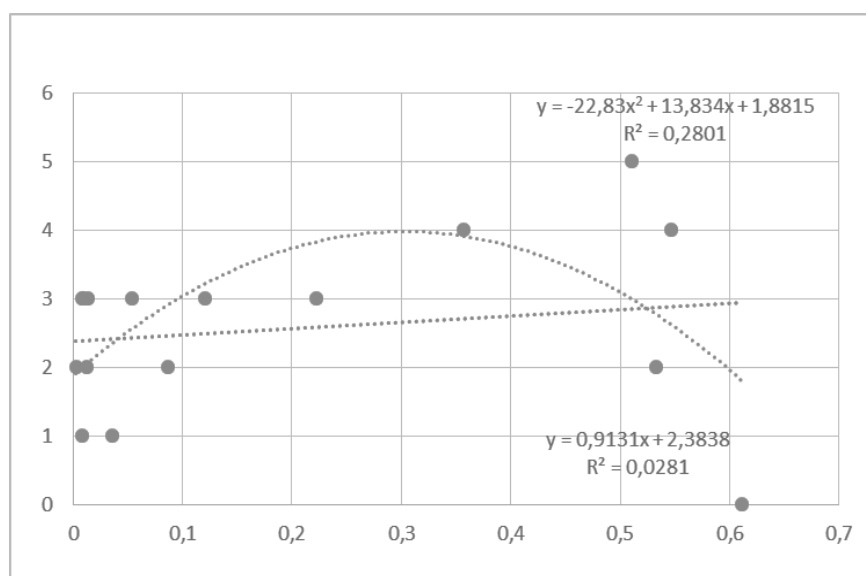


Figura 28: Gráfico de correlação por análise de regressão de Pearson entre tolerância de glifosato e o perfil de resistência apresentado pelas nossas cepas.

O uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal em solos contaminados com glifosato também pode representar uma estratégia interessante, pois os microrganismos podem degradar o glifosato diminuindo sua toxicidade ou mesmo o inativar além de estimular o crescimento radicular, melhorando a absorção de nutrientes, porém além de ter que resistir à pressão causada pela toxicidade do glifosato e se estabelecer, os microrganismos promotores de crescimento vegetal podem ter seu desempenho afetado (Castrejón-Godínez *et al.*, 2021; Zhumakayev *et al.*, 2021). Desta forma, mais testes devem ser realizados posteriormente.

3.15- Inoculação in vitro em sementes de tomate variação Santa Clara (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

As cepas bacterianas utilizadas nos testes in vitro com sementes de tomate foram selecionadas de acordo com o seu desempenho nos testes anteriores (quadro 4), sendo as cepas IC3As, selecionada devido ao valor apresentado no teste de quantificação da solubilização de fosfato de cálcio, IC3Ds, selecionada pela compatibilidade com o fungo *S. Indica*, e as cepas RC1DsII e RD1IsII, selecionadas pelo valor apresentado no teste de produção de AIA.

Quadro 4. Resultados gerais dos testes realizados em cada cepa bacteriana isolada.

CEPA	Área de coleta	Solub. fosfato de cálcio (mg PL)	Tolerância / solubilização Zn (%)	Fosfato de Rocha (redução do pH)	Assilação de Nitrogênio	Indóis (µg/mL (com trip))	tolerância salinidade	tolerância ao pH	temperatura	inibição fitopatogênicos	tolerância ao glifosato
CC8Bs	área conservada	0,104	0,50%	4	+	10,996	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
CC5AsRX		0,092	1,75%	5	+	6,388	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
RC2EsIII		0,260	0,50%	3,5	+	16,596	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	25,00%
RC2HsII		0,292	0,50%	3	+	11,900	2,5%	4 até 8	25°C a 36°C	+	12,50%
RC1NsII		0,126	0,10%	3	+	5,804	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
RC1KsII		0,159	2%	4	+	0,758	6%	4 até 10	25°C a 36°C	+	12,50%
RC1DsII		0,106	0,50%	4,5	+	25,258	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
RC1RsII		0,314	0,50%	3,5	+	5,950	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
RC1CsII		0,067	0,50%	4	+	5,950	2,5%	5 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
RC1FsII		0,072	0,50%	4	+	16,567	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
IC3As	área degradada	0,357	1,75%	4,5	+	2,042	2,5%	4 até 9	25°C a 42°C	+	12,50%
IC3Ds		0,392	0,10%	5	+	2,625	1%	6 até 8	25°C a 36°C	+	12,50%
IC3Gs		0,167	1,75%	4,5	+	4,317	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
IC3Cs		0,096	1,75%	4	+	1,954	2,5%	4 até 10	25°C a 36°C	+	12,50%
RD3AsII		0,008	1,75%	5,5	+	11,929	2,5%	4 até 9	25°C a 36°C	+	12,50%
RD1IsII	sem cobertura vegetal	0,078	2%	4	+	18,054	2,5%	4 até 9	25°C a 42°C	+	12,50%

Na avaliação do peso fresco foi verificada diferença significativa entre o controle e todos os tratamentos, não havendo diferença entre os tratamentos entre si (figura 29A e figura 30). Quando foram comparados o peso seco das partes aéreas, apenas a cepa RC1DsII apresentou diferença significativa (figura 29B e figura 30). Nas análises de peso fresco de raiz as cepas RD1IsII e RC1DsII foram semelhantes entre si, assim como entre as cepas IC3Ds e IC3As. Houve diferença significativa entre o controle e todos os tratamentos, exceto com a cepa IC3As (figura 29C e figura 30). Com relação ao peso seco de raiz, houve diferença significativa entre o controle

e as cepas IC3Ds e RC1DsII, enquanto que houve semelhança entre as cepas IC3Ds e RC1DsII e entre as cepas IC3As e RD1IsII (figura 29D e figura 30). As análises de densidade de raiz lateral não evidenciaram nenhuma diferença significativa (figura 29E e figura 30).

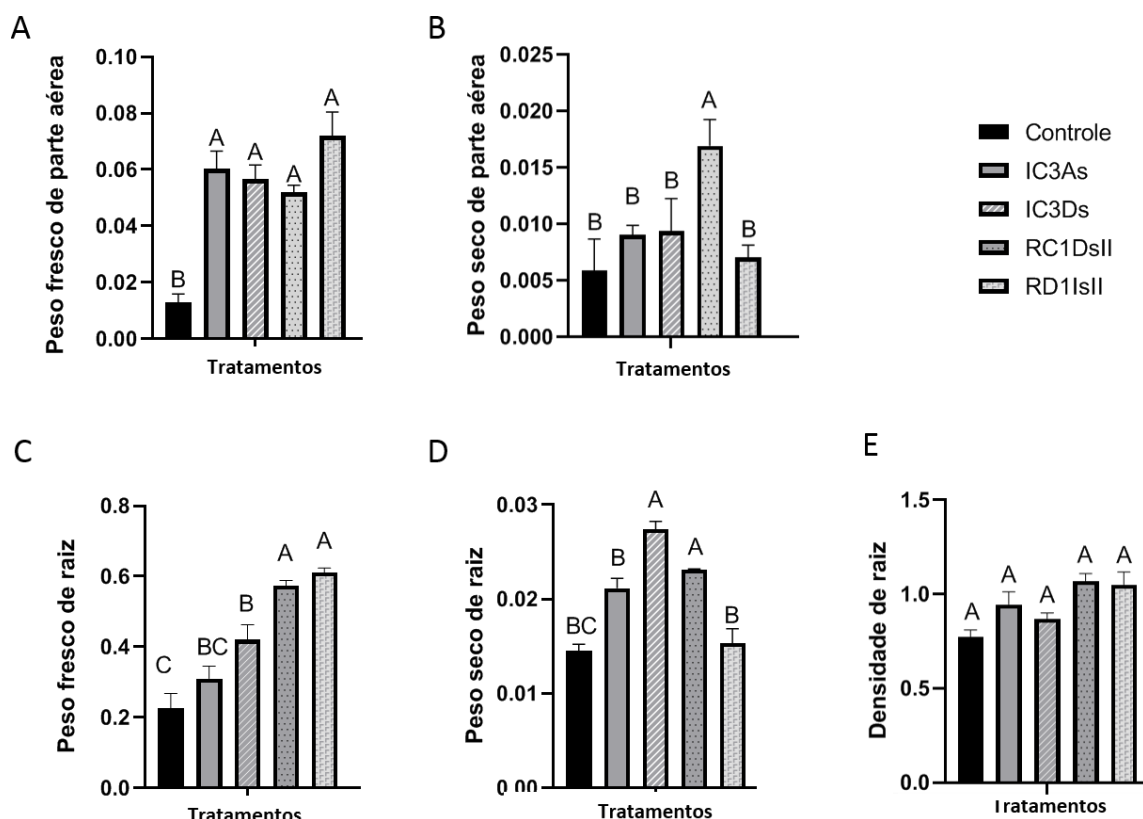


Figura 29. Gráfico de comparação entre diferentes parâmetros das plântulas de tomate frente a presença das cepas bacterianas testadas: Peso fresco de parte aérea (A), peso seco de parte aérea (B), peso fresco de raiz (C), peso seco de raiz (D) e densidade de raízes laterais (E). Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).



Figura 30. Fotos das placas com cultivo de tomates, após 15 dias de cultivo, sob diferentes tratamentos: Controle (A), cepa IC3As (B), cepa IC3Ds (C), cepa RC1DsII (D) e cepa RD1IsII (E).

Nos testes realizados apenas com a cepa IC3Ds e sua associação so fungo *S.indica* (consórcio), foi observada diferença significativa, no peso fresco de parte aérea, apenas entre o controle e o consórcio (figura 31A e figura 32). Entre os valores de peso seco de parte aérea foi observada diferença apenas entre a cepa IC3Ds e o fungo isoladamente e entre a cepa IC3Ds e o consórcio (figura 31B e figura 32). Quando analisadas as raízes, houve diferença significativa, no peso fresco, entre todos os tratamentos (figuras 31C e figura 32). Com relação ao peso seco de raiz, houve diferença significativa entre todos os tratamentos, exceto entre o controle e o fungo sozinho e entre este último e a cepa IC3Ds (figura 31D e figura 32). As análises de densidade de raiz lateral mostraram diferença significativa entre todos os tratamentos, exceto entre o controle e a cepa IC3Ds e entre o fungo sozinho e o consórcio (figura 31E e figura 32).

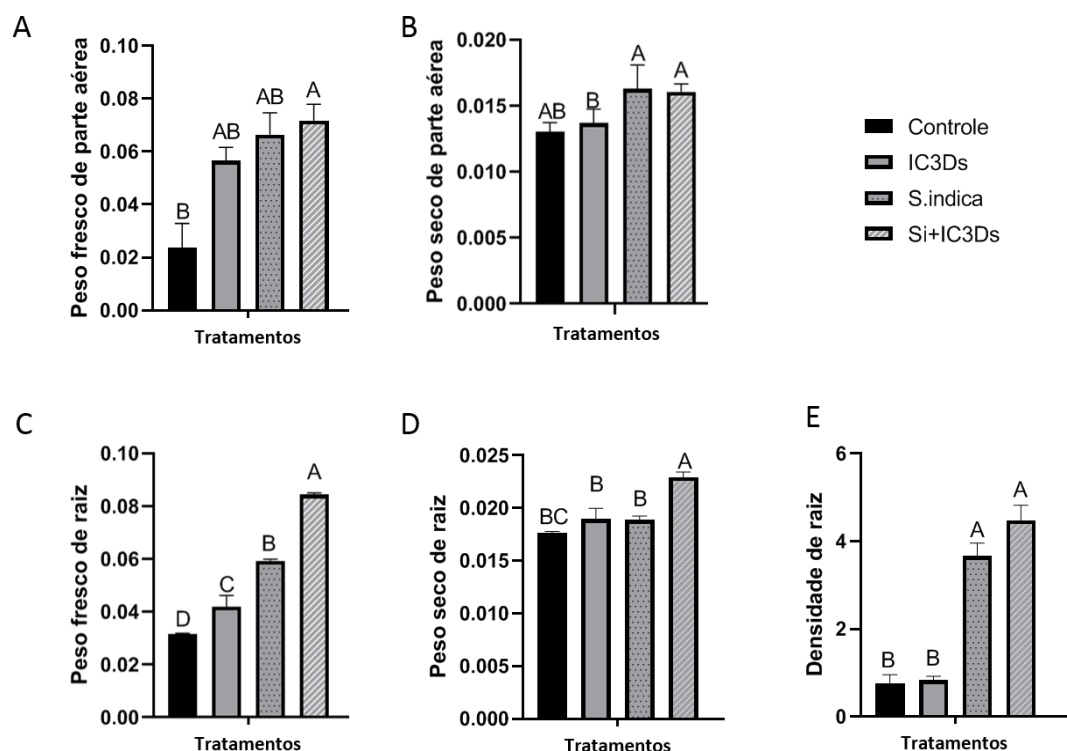


Figura 31. Gráfico de comparação entre diferentes parâmetros das plântulas de tomate frente a presença de cepas bacterianas IC3Ds, ao fungo *S.indica* e à associação de ambos microrganismos: Peso fresco de parte aérea (A), peso seco de parte aérea (B), peso fresco de raiz (C), peso seco de raiz (D) e densidade de raízes laterais (E). Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).



Figura 32. Fotos das placas com cultivo de tomates, após 15 dias de cultivo, sob diferentes tratamentos: Controle (A), cepa IC3Ds (B), *Serendipita indica* (C) e cepa IC3Ds associada ao *S. indica* (D).

De modo geral as cepas selecionadas se mostraram interessantes para uso na promoção de crescimento vegetal quando testadas in vitro com tomates. A que demonstrou menor desempenho foi a cepa IC3Ds, porém, se associada ao fungo *S. indica*, esta modifica seu potencial.

3.16- Teste de cepas por sua capacidade de aumentar a tolerância ao estresse salino de tomate variação Santa Clara (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Para o teste de tolerância ao estresse salino foram selecionadas as cepas RC1DsII e RD1IsII, selecionadas pelo valor apresentado no teste de produção de AIA. Com relação aos valores de peso fresco de parte aérea, houve diferença significativa entre todos os tratamentos (figura 33A e figura 34) e com uma melhora de, pelo menos, 89%. Com relação ao peso seco de parte aérea, a cepa RD1IsII não apresentou diferença significativa com o controle, porém os dois tratamentos diferiram significativamente quando comparados ao tratamento com a cepa RC1DsII (figura 33B e figura 34), havendo uma melhora também de 89%. Na análise de peso fresco de raiz, o tratamento com a cepa RC1DsII foi semelhante ao controle, porém, houve diferença significativa entre a cepa RD1IsII e todos os tratamentos (figura 33C e figura 34) apresentando uma melhora de 39%. O peso seco de raiz apresentou diferença significativa apenas entre os tratamentos com as cepas RC1DsII e RD1IsII, não havendo diferença com o controle (figura 33D e figura 34). Por fim, a densidade de raiz lateral não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (figura 33E e figura 34). Ainda, com relação à porcentagem de germinação, foi verificada uma melhora de 50% com a presença de cepa RC1DsII e de 75% com a presença da cepa RD1IsII.

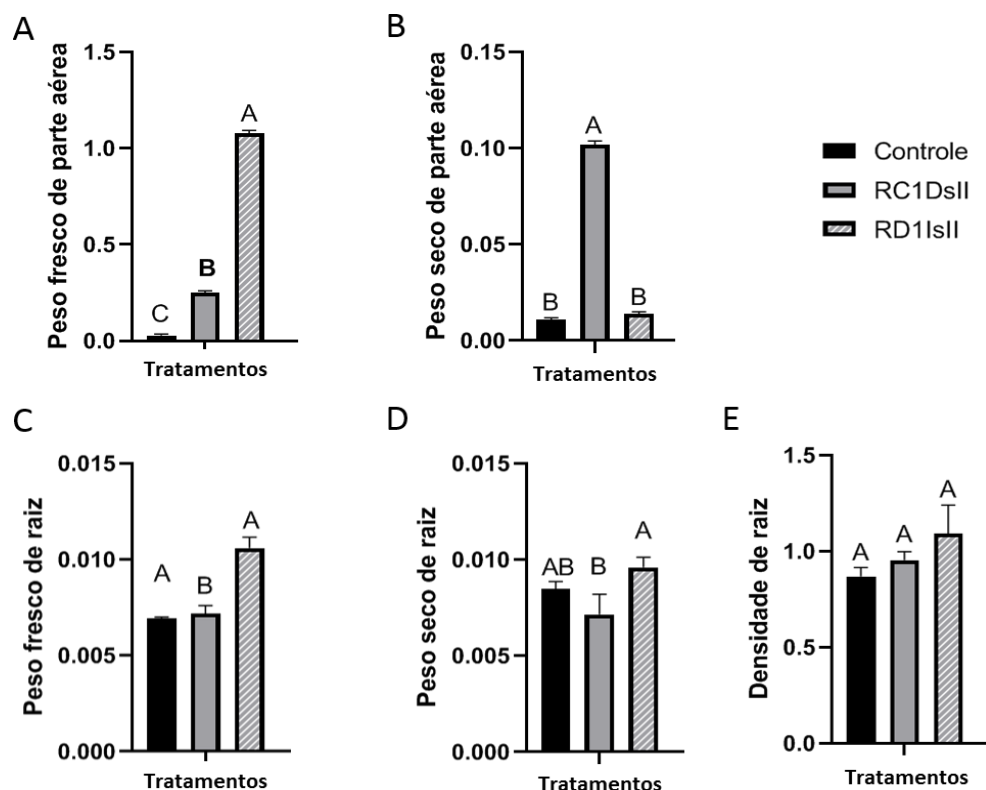


Figura 33. Gráfico de comparação entre diferentes parâmetros das plântulas de tomate cultivadas sob estresse salino: Peso fresco de parte aérea (A), peso seco de parte aérea (B), peso fresco de raiz (C), peso seco de raiz (D) e densidade de raízes laterais (E). Os dados foram analisados por ANOVA two-way combinado com teste de Tukey. Para uma mesma área (conservada ou degradada), as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, em diferentes tipos de área (com cobertura vegetal ou sem cobertura vegetal), não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$. Para o mesmo tipo de área, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, em diferentes áreas, não possuem diferença significativa pelo teste de Tukey ao $p < 0,05$ ($n=3$).

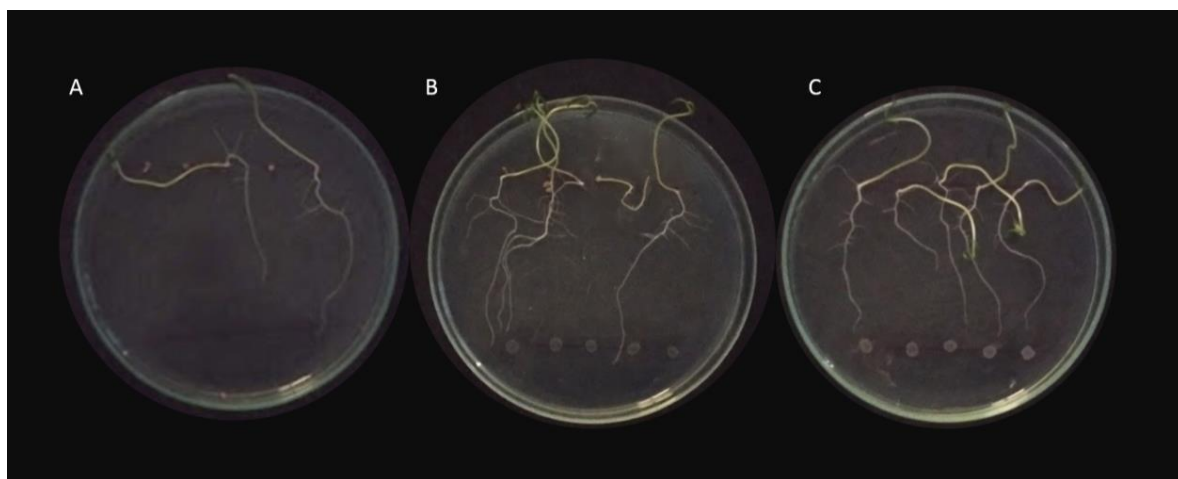


Figura 34. Gráfico de comparação entre diferentes parâmetros das plântulas de tomate cultivadas sob estresse salino: controle (A), cepa RC1DsII (B) e cepa RD1IsII (C).

Em seu trabalho, também com exposição ao estresse salino, Ali *et al.* (2023), verificaram que o uso da cepa PM31 de *Bacillus sp.* em milho (*Zea mays* L.), melhorou o crescimento de parte aérea em 6%, bem como o comprimento da raiz em 22%, além do peso fresco total aumentar em 39% e do peso seco em 29%, e de reduzirem indicadores de estresse oxidativo em 12%, quando comparados com plantas não inoculadas. As diferenças entre os nossos parâmetros podem se tornar mais evidentes uma vez que os testes sejam realizados em casa de vegetação, onde é possível expor a planta a um maior tempo aos tratamentos.

4- Conclusão

No presente trabalho foi possível selecionar 16 cepas bacterianas com diferentes perfis para a promoção de crescimento vegetal. Por serem provenientes de áreas onde existem, naturalmente, uma forte pressão de seleção, essas cepas se mostram aptas ao desafio de se estabelecerem em solos já desgastados tanto pelas intempéries quanto pelas ações antropogênicas. Um maior número de cepas foi isolado da região sem cobertura vegetal da área conservada, o que destaca sua importância na manutenção do ambiente, mesmo em solos não rizosféricos. Foi selecionada apenas uma cepa proveniente da área degradada sem cobertura vegetal e essa cepa foi uma das que mais se destacou com relação à produção de indóis, tendo também se destacado no teste de tolerância à salinidade, o que pode estar diretamente ligado ao fato de esta região ser a mais impactada pelas ações antrópicas. Por fim, ainda são necessários testes em casa de vegetação e no campo para a ratificação dos nossos resultados e desenvolvimento de bioinoculantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul Rahman, N. S. N., Abdul Hamid, N. W. and Nadarajah, K. (2021). Effects of Abiotic Stress on Soil Microbiome. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 9036. doi: 10.3390/ijms22169036
- Abreu, M.F. de; Andrade, J.C. de; Falcão, A. A.; "Protocolos de análises químicas", "Análise Química de Resíduos Sólidos para Monitoramento e Estudos Agroambientais", 12/2006, ed. 1, IAC, pp. 38, pp.121-158, 2006
- Ako, T. A., Onoduku, U. S., Oke, S. A., Essien, B. I., Idris, F. N., Umar, A. N., & Ahmed, A. A. (2014). Environmental effects of sand and gravel mining on land and soil in Luku, Minna, Niger State, North Central Nigeria.
- Ali, B., Hafeez, A., Afridi, M. S., Javed, M. A., Sumaira, Suleman, F.,....& Darwish, D. B. E. (2023). Bacterial-Mediated Salinity Stress Tolerance in Maize (*Zea mays* L.): A Fortunate Way toward Sustainable Agriculture. *ACS omega*.
- Almeida Filho, R., Casagrande, J. C., Martins Bonilha, R., Soares, M. R., Silva, L. G., & Colato, A. (2013, April). Soil quality of restinga forest: organic matter and aluminum saturation. In *EGU General Assembly Conference Abstracts* (pp. EGU2013-6096).
- Alsharif, W., Saad, M. M. and Hirt, H. (2020) Desert Microbes for Boosting Sustainable Agriculture in Extreme Environments. *Front. Microbiol.* 11:1666. doi: 10.3389/fmicb.2020.01666
- Avila-Quezada, G. D., & Rai, M. (2022). Diseases of Fruits, Tubers, and Seeds Caused by *Phoma* sensu lato Species Complex. *Phoma: Diversity, Taxonomy, Bioactivities, and Nanotechnology*, 57-64.
- Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2021). Reclamation of arid and semi-arid soils: The role of plant growth-promoting archaea and bacteria. *Current Plant Biology*, 25, 100173.
- Bai, J., Xiao, R., Zhang, K., Gao, H., Cui, B., & Liu, X. (2013). Soil organic carbon as affected by land use in young and old reclaimed regions of a coastal estuary wetland, China. *Soil Use and Management*, 29(1), 57-64. doi:10.1111/sum.12021

Balamurugan, A., & Kumar, A. (2023). Postharvest fruit rot of Bell pepper (*Capsicum annuum* L.): Pathogenicity and Host range of *Alternaria alternata*. *Scientia Horticulturae*, 319, 112156.

Balestrini, R., Chitarra, W., Fotopoulos, V. and Ruocco, M. (2017). Potential Role of Beneficial Soil Microorganisms in Plant Tolerance to Abiotic Stress Factors. *Soil Biological Communities and Ecosystem Resilience*, 191-207. doi: 10.1007/978-3-319-63336-7_12

Bapiri, A., Asgharzadeh, A., Mujallali, H., Khavazi, K. & Pazira, E. Evaluation of Zinc solubilization potential by different strains of Fluorescent *Pseudomonads*. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 16 (2012).

Barbosa da Costa, N., Hébert, M. P., Fugère, V., Terrat, Y., Fussmann, G. F., Gonzalez, A., & Shapiro, B. J. (2022). A glyphosate-based herbicide cross-selects for antibiotic resistance genes in bacterioplankton communities. *Msystems*, 7(2), e01482-21.

Barcelos, M. E., Rigueiro, J. R., Silva, L. T., & Ferreira Jr, P. F. (2012). Uma visão panorâmica sobre os solos das restingas e seu papel na definição de comunidades vegetais nas planícies costeiras do sudeste do Brasil. *Natureza online*, 10(2), 71-76.

Bárcenas-Moreno, G. E. M. A., Gómez-Brandón, M. A. R. I. A., Rousk, J., & Bååth, E. (2009). Adaptation of soil microbial communities to temperature: comparison of fungi and bacteria in a laboratory experiment. *Global Change Biology*, 15(12), 2950-2957.

Barroso, A. A. M., Colombo, W. L., Martins, P. D. F. R. B., Nepomuceno, M. P., & Alves, P. L. D. C. A. (2018). Glyphosate resistant ryegrass competitive ability. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 13(3), 1-7.

Barrow, N. J., and Hans Lambers. "Phosphate-solubilising microorganisms mainly increase plant phosphate uptake by effects of pH on root physiology." *Plant and Soil* (2022): 1-6.

Bastías, Daniel A., et al. "Environmental interference of plant– microbe interactions." *Plant, cell & environment* 45.12 (2022): 3387-3398.

- Bennett, E. M., Murray, J. W., & Isalan, M. (2023). Engineering nitrogenases for synthetic nitrogen fixation: From pathway engineering to directed evolution. *BioDesign Research*, 5, 0005.
- Benslama, O., & Boulahrouf, A. (2013). Isolation and characterization of glyphosate-degrading bacteria from different soils of Algeria. *Afr J Microbiol Res*, 7(49), 5587-95.
- Bhattacharjya, S., Adhikari, T., Kundu, S., Sahu, A., & Patra, A. K. (2019). Evaluation of microbial solubilisation of nano rock phosphate. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 8(01), 1055-1069.
- Bokhari, A., Essack, M., Lafi, F. F., Andres-Barrao, C., Jalal, R., Alamoudi, S., ... Saad, M. M. (2019). Bioprospecting desert plant *Bacillus* endophytic strains for their potential to enhance plant stress tolerance. *Scientific Reports*, 9(1). doi:10.1038/s41598-019-54685-y
- Bonilha, R. M., Casagrande, J. C., Soares, M. R., & Reis-Duarte, R. M. (2012). Characterization of the soil fertility and root system of restinga forests. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36, 1804-1813.
- Boretti, A. and Rosa, L. (2019). Reassessing the projections of the World Water Development Report. *npj Clean Water* 2, 15. doi: 10.1038/s41545-019-0039-9
- Borges, B., Melo Júnior, J. C. F., Guedes, S. P. L. C and Carelli, M. N.. (2018). Landscape ecology and social representations as tools for ecological restoration of restinga landscapes. *Revista Brasileira de Geografia Física* v.11, n.1 (2018) 181-191. doi:10.26848/rbgf.v10.6.p181-191
- Brauer, V. S., Rezende, C. P., Pessoni, A. M., De Paula, R. G., Rangappa, K. S., Nayaka, S. C., & Almeida, F. (2019). Antifungal agents in agriculture: Friends and foes of public health. *Biomolecules*, 9(10), 521.
- Brito, L. D. S., Irmiler, U., Forte, B. V. G., Xavier, T. P., & Martins, R. L. (2018). Matter turnover in the oligotrophic restinga ecosystem and the importance of the key species *Clusia hilariana*. *Biota Neotropica*, 18.
- Burek, P., Satoh, Y., Fischer, G., Kahil, T., Nava Jimenez, L., Scherzer, A., Tramberend, S., Wada, Y., Eisner, S., Florke, M., Hanasaki, N., Magnusziewski, P.,

Cosgrove, W. and Wiberg, D. (2016). Water Futures and Solution - Fast Track Initiative (Final Report). IIASA Working Paper. IIASA, Laxenburg, Austria: WP-16-006.

Canellas, Luciano Pasqualoto. *Humosfera : tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas* / Luciano Pasqualoto Canellas e Gabriel Araújo Santos. – Campos dos Goytacazes : L. P. Canellas , G. A. Santos, 2005. 309 p.: il.

Castrejón-Godínez, M. L., Tovar-Sánchez, E., Valencia-Cuevas, L., Rosas-Ramírez, M. E., Rodríguez, A., & Mussali-Galante, P. (2021). Glyphosate pollution treatment and microbial degradation alternatives, a review. *Microorganisms*, 9(11), 2322.

Chakraborty, P., & Tribedi, P. (2019). Functional diversity performs a key role in the isolation of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria from soil. *Folia microbiologica*, 64(3), 461-470.

Chawngthu, Lalrampani, Remruattluanga Hnamte, and R. Lalfakzuala. "Isolation and characterization of rhizospheric phosphate solubilizing bacteria from wetland paddy field of Mizoram, India." *Geomicrobiology Journal* 37.4 (2020): 366-375.

Cheng, Y. T., Zhang, L. and He, S.Y. (2019). Plant-Microbe Interactions Facing Environmental Challenge, *Cell Host & Microbe*, Volume 26, Issue 2, Pages 183-192, ISSN 1931-3128. doi: 10.1016/j.chom.2019.07.009.

Chodak, M., Gołębiewski, M., Morawska-Płoskonka, J., Kuduk, K., & Niklińska, M. (2015). Soil chemical properties affect the reaction of forest soil bacteria to drought and rewetting stress. *Annals of microbiology*, 65, 1627-1637.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 13th ed. CLSI standard M02. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 420/2009. Disponível em < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm.htm> > Acesso em 20 de maio de 2023.

Cui, J.; Liu, C.; Li, Z.; Wang, L.; Chen, X.; Ye, Z.; Fang, C.M. Long-term changes in topsoil chemical properties under centuries of cultivation after reclamation of coastal wetlands in the Yangtze Estuary, China. *Soil Till Res.* 2012, 123, 50-60

D'Angelo, E., Crutchfield, J., & Vandiviere, M. (2001). Rapid, Sensitive, Microscale Determination of Phosphate in Water and Soil. *Journal of Environment Quality*, 30(6), 2206. doi:10.2134/jeq2001.2206

da Silva, A. J., Netto, A. D. O. A., Lucas, A. A. T., de Araújo, R. R., & de Sousa, A. D. F. (2020). Reduction of salinity and sodicity of saline-sodic soils under filed condition in Brazilian semi-arid region. *Scientia Plena*, 16(9).

Dabral, S., Saxena, S. C., Choudhary, D. K., Bandyopadhyay, P., Sahoo, R. K., Tuteja, N., & Nath, M. (2020). Synergistic inoculation of *Azotobacter vinelandii* and *Serendipita indica* augmented rice growth. *Symbiosis*, 81, 139-148.

de Souza, R. S. C., Armanhi, J. S.L. and Arruda, P. (2020) From Microbiome to Traits: Designing Synthetic Microbial Communities for Improved Crop Resiliency. *Front. Plant Sci.* 11:1179. doi: 10.3389/fpls.2020.01179

Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(4), 414-430.

del Barrio-Duque, A., Ley, J., Samad, A., Antonielli, L., Sessitsch, A., & Compant, S. (2019). Beneficial endophytic bacteria-*Serendipita indica* interaction for crop enhancement and resistance to phytopathogens. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2888.

Dey, G., Banerjee, P., Sharma, R. K., Maity, J. P., Etesami, H., Shaw, A. K., ... & Chen, C.Y. (2021). Management of phosphorus in salinity-stressed agriculture for sustainable crop production by salt-tolerant phosphate-solubilizing bacteria—A review. *Agronomy*, 11(8), 1552.

Dias dos Santos, F., Aparecida Fantinel, R., Broetto Weiler, E., & Cabral Cruz, J. (2021). FATORES QUE AFETAM A DISPONIBILIDADE DE MICRONUTRIENTES NO SOLO. *Tecno-Lógica*, 25(2).

Dobereiner, J.; Baldani, V.L.D.; Baldani, J.L. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. - Brasília : EMBRAPA - SPI : Itaguaí, RJ: EMBRAPA-CNPAB, 1995. 60p. ISBN 85-85007-65-6

Elhaissofi, Wissal, et al. "Screening of potential phosphate solubilizing bacteria inoculants should consider the contrast in phosphorus bio-solubilization rate along with

plant growth promotion and phosphorus use efficiency." *Journal of Applied Microbiology* 134.2 (2023): lxac077.

El-Sharkawy, H. H., Abbas, M. S., Soliman, A. S., Ibrahim, S. A., & El-Nady, I. A. (2021). Synergistic effect of growth-promoting microorganisms on bio-control of *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi, growth, yield, physiological and anatomical characteristics of pea plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 178, 104939.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. (2018) Sistema brasileiro de classificação de solos. 5. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 353 p.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. (2009) Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. 370p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2. ed. rev. atual. - Rio de Janeiro, 1997. 212p.

Eslamian, S. and Eslamian, F. (Eds.). (2017). *Handbook of Drought and Water Scarcity: Principles of Drought and Water Scarcity* (1st ed.). CRC Press. doi: 10.1201/9781315404219

FAO 2017. The future of food and agriculture - Trends and challenges. Rome.

Ferreira, R. D. P., Moreira, A., & Rassini, J. B. (2006). Toxidez de alumínio em culturas anuais.

Fossati, L. C., & Nogueira, A. C. (2009). Qualidade física e fisiológica das cipselas de *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex Malme de diferentes populações e árvores porta-sementes. *Floresta*, 39(2).

Gao, J., Luo, Y., Wei, Y., Huang, Y., Zhang, H., He, W., Sheng, H. and An, L.(2019) Effect of aridity and dune type on rhizosphere soil bacterial communities of *Caragana microphylla* in desert regions of northern China. *PLoS ONE* 14(10): e0224195. doi: 10.1371/journal.pone.0224195

Gerke, J. (2015). The acquisition of phosphate by higher plants: Effect of carboxylate release by the roots. A critical review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 178(3), 351-364.

Grantina-levina, L., Kenigšvalde, K., Aze, D., Petrina, Z., Skrabule, I., Rostoks, N. and Nikolajeva, V.. (2011). Impact of six-year-long organic cropping on soil microorganisms and crop disease suppressiveness. *Zemdirbyste*. 98. 399-408.

Gupta, A., Rico-Medina, A. and Caño-Delgado, A.I. (2020). The physiology of plant responses to drought. *Science*, 368(6488), 266-269. doi:10.1126/science.aaz7614

Haouas, A., El Modafar, C., Douira, A., Ibensouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A., Moukhli, A., & Amir, S. (2021). Evaluation of the nutrients cycle, humification process, and agronomic efficiency of organic wastes composting enriched with phosphate sludge. *Journal of Cleaner Production*, 302, 127051.

Haque, M. M. U., Rahman, M. A., Ador, M. A. H., & Ahmed, R. (2023). First Report of *Rhizopus stolonifer* Causing Premature Soft Rot of Jackfruit in Bangladesh. *Plant Disease*, (ja).

Hertel, R., Gibhardt, J., Martienssen, M., Kuhn, R., & Commichau, F. M. (2021). Molecular mechanisms underlying glyphosate resistance in bacteria. *Environmental Microbiology*, 23(6), 2891-2905.

Hou, S., Zheng, N., Tang, L., Ji, X., & Li, Y. (2019). Effect of soil pH and organic matter content on heavy metals availability in maize (*Zea mays* L.) rhizospheric soil of non-ferrous metals smelting area. *Environmental monitoring and assessment*, 191, 1-10.

Hubbard, R.K.; Strickland, T.C.; Phatak, S. Effects of cover crop systems on soil physical properties and carbon/nitrogen relationships in the coastal plain of southeastern USA. *Soil Till Res*. 2013, 126, 276-283

Iwu, C. D., Korsten, L., & Okoh, A. I. (2020). The incidence of antibiotic resistance within and beyond the agricultural ecosystem: A concern for public health. *Microbiologyopen*, 9(9), e1035.

Jangir, P., Shekhawat, P. K., Bishnoi, A., Ram, H., & Soni, P. (2021). Role of *Serendipita indica* in enhancing drought tolerance in crops. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 116, 101691.

- Jenkins, D. J., Woolston, B. M., Hood-Pishchany, M. I., Pelayo, P., Konopaski, A. N., Peters, M. Q.,... & Balskus, E. P. (2021). Identification and characterization of bacterial glycogen-degrading enzymes in the vaginal microbiome. *BioRxiv*, 2021-07.
- Jerlin, B., Sharmila, S., Kathiresan, K. and Kayalvizhi, K. (2017) Zinc Solubilizing Bacteria from Rhizospheric Soil of Mangroves. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 2, No. 3, pp. 148-155. doi: 10.11648/j.ijmb.20170203.17
- Joshi, G., Kumar, V., & Brahmachari, S. K. (2021). Screening and identification of novel halotolerant bacterial strains and assessment for insoluble phosphate solubilization and IAA production. *Bulletin of the National Research Centre*, 45(1), 83.
- Kalayu, G. (2019) Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, vol. 2019, Article ID 4917256, 7 pages. doi:10.1155/2019/4917256
- Koneman, Elmer, et al. "Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido." *Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido* 2012. xxxv-1565.
- Kooijman, A., Morriën, E., Jagers op Akkerhuis, G., Missong, A., Bol, R., Klumpp, E., ... & Bloem, J. (2020). Resilience in coastal dune grasslands: pH and soil organic matter effects on P nutrition, plant strategies, and soil communities. *Ecosphere*, 11(5), e03112.
- Kour, D., Rana, K. L., Kaur, T., Sheikh, I., Yadav, A. N., Kumar, V., Dhaliwal, H. S. and Saxena, A. K. (2020). Microbe-mediated alleviation of drought stress and acquisition of phosphorus in great millet (*Sorghum bicolor* L.) by drought-adaptive and phosphorus-solubilizing microbes. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101501. doi:10.1016/j.bcab.2020.101501
- Kour, R., Jain, D., Bhojiya, A. A., Sukhwal, A., Sanadhya, S., Saheewala, H., & Mohanty, S. R. (2019). Zinc biosorption, biochemical and molecular characterization of plant growth-promoting zinc-tolerant bacteria. *3 Biotech*, 9, 1-17.
- Kumar A., Dewangan S., Lawate P., Bahadur I., Prajapati S. (2019) Zinc-Solubilizing Bacteria: A Boon for Sustainable Agriculture. In: Sayyed R., Arora N., Reddy M. (eds) *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management. Microorganisms for Sustainability*, vol 12. Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-13-6536-2_8

- Kumar, B., & Srivastava, J. N. (2020). Finger Millet or Ragi (*Eleusine coracana* Gaertn.) Diseases and Their Management Strategies. In *Diseases of Field Crops: Diagnosis and Management* (pp. 219-255). Apple Academic Press
- Kurganova, I. N., Telesnina, V. M., Lopes de Gerenyu, V. O., Lichko, V. I., & Karavanova, E. I. (2021). The dynamics of carbon pools and biological activity of retic albic podzols in southern taiga during the postagrogenic evolution. *Eurasian Soil Science*, 54, 337-351.
- Lan, N. N., Van Dung, V., Lien, N. T. K., Thoa, N. K., Nghi, D. H., & Hoang, N. H. (2019). Isolation and identification of indole acetic acid producing bacteria from the coasts of Ben Tre and Tra Vinh Provinces. *Vietnam Acad J Biol*, 41, 55-67.
- Lanna Filho, R., Romeiro, R. da S., & Alves, E. (2010). Bacterial spot and early blight biocontrol by epiphytic bacteria in tomato plants. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45(12), 1381-1387. doi:10.1590/s0100-204x2010001200007
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016). Cultural, Physiological, and Biochemical Identification of Actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. doi:10.5772/61462
- Li, Y., Ma, X., Gai, W. X., Xiao, L. D., & Gong, Z. H. (2021). First report of *Colletotrichum gloeosporioides* causing Anthracnose on pepper in Shaanxi Province, China. *Plant Disease*, 105(8), 2242.
- Lindsay, W. L. (1972). Zinc in Soils and Plant Nutrition. *Advances in Agronomy*, 147-186. doi:10.1016/s0065-2113(08)60635-5
- Liu, D., Yan, R., Fu, Y., Wang, X., Zhang, J., & Xiang, W. (2019). Antifungal, plant growth-promoting, and genomic properties of an endophytic actinobacterium *Streptomyces* sp. NEAU-S7GS2. *Frontiers in microbiology*, 10, 2077.
- Liu, J., Jia, X., Yan, W., Zhong, Y., & Shangguan, Z. (2020). Changes in soil microbial community structure during long-term secondary succession. *Land Degradation & Development*, 31(9), 1151-1166.
- Loureiro, N., de Souza, T. P., do Nascimento, D. F., & Nascimento, M. T. (2022). Survival, seedlings growth and natural regeneration in areas under ecological

restoration in a sandy coastal plain (restinga) of southeastern Brazil. *Austral Ecology*, 47(2), 326-340.

Ma, Xinwei; Zhao Su, Hong Ma, Molecular genetic analyses of abiotic stress responses during plant reproductive development, *Journal of Experimental Botany*, Volume 71, Issue 10, 30 May 2020, Pages 2870-2885, <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa089>

Mabagala, F. S. (2022). On the tropical soils; The influence of organic matter (OM) on phosphate bioavailability. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

Magallon-Servin, P., Antoun, H., Taktek, S., & de-Bashan, L. E. (2020). Designing a multi-species inoculant of phosphate rock-solubilizing bacteria compatible with arbuscular mycorrhizae for plant growth promotion in low-P soil amended with PR. *Biology and Fertility of Soils*. doi:10.1007/s00374-020-01452-1

Maharana, R., & Dhal, N. K. (2022). Solubilization of rock phosphate by phosphate solubilizing bacteria isolated from effluent treatment plant sludge of a fertilizer plant. *Folia Microbiologica*, 67(4), 605-615.

Mahmood, T., Abdullah, M., Ahmar, S., Yasir, M., Iqbal, M. S., Yasir, M., ... Mora-Poblete, F. (2020). Incredible Role of Osmotic Adjustment in Grain Yield Sustainability under Water Scarcity Conditions in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants*, 9, 1208. doi: 10.3390/plants9091208

Marra, L. M., de Oliveira-Longatti, S. M., Soares, C. R. F. S., Olivares, F. L., & Moreira, F. M. D. S. (2019). The amount of phosphate solubilization depends on the strain, C-source, organic acids and type of phosphate. *Geomicrobiology Journal*, 36(3), 232- 242.

Marra, L. M., Oliveira-Longatti, S. M., Soares, C. R. F. S., Lima, J. M. de, Olivares, F. L. and Moreira, F. M. S.(2015). Initial pH of medium affects organic acids production but do not affect phosphate solubilization. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 367- 375. doi:10.1590/s1517-838246246220131102

Medeiros, F. H. V. de; Silva, J. C. P. da; Pascholati, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; B. FILHO, A. (ed.). *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 5. ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres Ltda., 2018. cap. 17.p. 261-274.

- Melvin Joe, M., Deivaraj, S., Benson, A., Henry, A. J. and Narendrakumar, G. (2018). Soil extract calcium phosphate media for screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Agriculture and Natural Resources*. 52. 305-308. doi: 10.1016/j.anres.2018.09.014
- Mendes, L. W. and Tsai, S. M. (2017). Distinct taxonomic and functional composition of soil microbiomes along the gradient forest-restinga-mangrove in southeastern Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111(1), 101-114. doi:10.1007/s10482-017-0931-6
- Mendes, L.W., Tsai, S.M. Distinct taxonomic and functional composition of soil microbiomes along the gradient forest-restinga-mangrove in southeastern Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek* 111, 101-114 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0931-6>
- Mendes, M. F., Blauth, M. L., Dos Santos, L. A., & Gottschalk, M. S. (2021). Temporal edge effects structure the assemblages of Drosophilidae (Diptera) in a Restinga forest fragment in Southern Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*, 16(2), 299-315.
- Menten, J. O. M.; Minussi, C. C.; Castro, C.; Kimati, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. "in vitro". *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.
- Moradi, A.; Tahmourespour, A.; Hoodaji, M.; Khorsandi, F. Effect of salinity on free living-diazotroph and total bacterial populations of two saline soils. *African Journal of Microbiology Research*, v.5, p.144-148, 2011.
- Naing, A. H., Maung, T., & Kim, C. K. (2021). The ACC deaminase-producing plant growth-promoting bacteria: Influences of bacterial strains and ACC deaminase activities in plant tolerance to abiotic stress. *Physiologia Plantarum*. doi:10.1111/pp.13545
- Nautiyal, C.S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), 265-270. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x
- Nayak, Shubhransu, Satyaranjan Behera, and Prasad Kumar Dash. "Potential of microbial diversity of coastal sand dunes: need for exploration in Odisha Coast of India." *The Scientific World Journal* 2019 (2019).

Nguyen, B. A. T., Chen, Q. L., He, J. Z., & Hu, H. W. (2020). Microbial regulation of natural antibiotic resistance: Understanding the protist-bacteria interactions for evolution of soil resistome. *Science of the Total Environment*, 705, 135882.

Nottingham, A. T., Bååth, E., Reischke, S., Salinas, N., & Meir, P. (2019). Adaptation of soil microbial growth to temperature: Using a tropical elevation gradient to predict future changes. *Global change biology*, 25(3), 827-838.

Oliveira, Vitor Ferreira de, R., Borges Coutinho Gallo, M., Viana de Sousa, O., Vasconcelos Ribeiro, Álef., Salata Lima, T., Gomes Lima, C., Paulo Andrade Silva, V., Ferreira Carneiro, F., Rodrigues Filho, Édson, & de Andrade Nobre, C. (2021). Tolerância ao glifosato e resistência a antibióticos em bactérias gram negativas isoladas de solos de diferentes sistemas de manejo agrícola no Ceará, Brasil. *Gaia Scientia*, 15(2). <https://doi.org/10.22478/ufpb.1981-1268.2021v15n2.53654>

Oliveira, J., Parisi, M. C. M., Baggio, J. S., Silva, P. P. M., Paviani, B., Spoto, M. H. F., & Gloria, E. M. (2019). Control of *Rhizopus stolonifer* in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethylcellulose. *International journal of food microbiology*, 292, 150-158.

Orozco-Mosqueda, M. D. C., Kumar, A., Fadiji, A. E., Babalola, O. O., Puopolo, G., & Santoyo, G. (2023). Agroecological management of the grey mould fungus *Botrytis cinerea* by plant growth-promoting bacteria. *Plants*, 12(3), 637.

Ortiz-Castro, R., Campos-García, J., & López-Bucio, J. (2019). *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* influence *Arabidopsis* root system architecture through an auxin response mediated by bioactive cyclodipeptides. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39(1), 254-265.

Patriarcheas, D., Momtareen, T., & Gallagher, J. E. (2023). Yeast of Eden: microbial resistance to glyphosate from a yeast perspective. *Current Genetics*, 1-10.

Pereira, A. M., Maia, M. R., Fonseca, A. J. M., & Cabrita, A. R. J. (2021). Zinc in dog nutrition, health and disease: a review. *Animals*, 11(4), 978.

Perry, E. K., Meirelles, L. A., & Newman, D. K. (2022). From the soil to the clinic: the impact of microbial secondary metabolites on antibiotic tolerance and resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 20(3), 129-142.

Pessoa, L. G., Freire, M. B. D. S., Green, C. H., Miranda, M. F., de A Filho, J. C., & Pessoa, W. R. (2022). Assessment of soil salinity status under different land-use conditions in the semiarid region of Northeastern Brazil. *Ecological Indicators*, 141, 109139.

Pikuła, D., & Stępień, W. (2021). Effect of the degree of soil contamination with heavy metals on their mobility in the soil profile in a microplot experiment. *Agronomy*, 11(5), 878.

Pinto, A. L., Canei, A. D., de Armas, R. D., da Silva, E. P., Hernández, A. G., Giachini, A. J., & Soares, C. R. F. S. (2020). Structure of microbial soil communities in areas of restinga: a case study in a conservation unit in the Atlantic Forest of the Southern Brazilian coast. *Tropical Ecology*, 61(4), 594-600. doi:10.1007/s42965-020-00103-8

Poly, F., Monrozier, L. J., & Bally, R. (2001). Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of nifH genes in communities of nitrogen fixers in soil. *Research in microbiology*, 152(1), 95-103.

Poveda, J., & Eugui, D. (2022). Combined use of Trichoderma and beneficial bacteria (mainly Bacillus and Pseudomonas): Development of microbial synergistic bio-inoculants in sustainable agriculture. *Biological Control*, 105100.

Priyanto, A. D., Saputra, D., Rachman, F. A., & Sitorus, R. J. (2020, June). Effect of Glyphosate Herbicide on Environmental Health. In 2nd Sriwijaya International Conference of Public Health (SICPH 2019) (pp. 95-100). Atlantis Press.

Puissant, J., Jones, B., Goodall, T., Mang, D., Bland, A., Gweon, H. S.,.....& Griffiths, R. (2019). The pH optimum of soil exoenzymes adapt to long term changes in soil pH. *Soil Biology and Biochemistry*, 138, 107601.

Pupin, B., and Nahas, E. (2014). Microbial populations and activities of mangrove, restinga and Atlantic forest soils from Cardoso Island, Brazil. *Journal of Applied Microbiology*, 116(4), 851-864. doi:10.1111/jam.12413

Rahimzadeh MR, Rahimzadeh MR, Kazemi S, Moghadamnia AA. Zinc Poisoning Symptoms, Causes, Treatments. *Mini Rev Med Chem*. 2020;20(15):1489-1498. doi: 10.2174/1389557520666200414161944. PMID: 32286942.

- Rai, A., Cherif, A., Cruz, C. and Nabti, E. (2018). Extracts from marine macroalgae and *Opuntia ficus-indica* Cladodes Enhance Halotolerance and Enzymatic Potential of Diazotrophic Rhizobacteria and Their Impact on Wheat Germination under Salt Stress. *Pedosphere*, 28(2), 241-254. doi:10.1016/s1002-0160(17)60333-3
- Ramakrishna, W., Yadav, R., & Li, K. (2019). Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. *Applied Soil Ecology*, 138, 10-18.
- Raven, P. H., & Wagner, D. L. (2021). Agricultural intensification and climate change are rapidly decreasing insect biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(2), e2002548117.
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. (2021). Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21, 49-68.
- Reid, M. L., Howes, A. S., & Emery, S. M. (2019). Dune soil communities primarily associated with climate factors, not exotic plant presence. *Plant and Soil*, 436(1-2), 503-515. doi:10.1007/s11104-019-03944-y
- Rfaki, A., Zennouhi, O., Aliyat, F. Z., Nassiri, L., & Ibijbjen, J. (2020). Isolation, selection and characterization of root-associated rock phosphate solubilizing bacteria in moroccan wheat (*Triticum aestivum* L.). *Geomicrobiology Journal*, 37(3), 230-241.
- Rodrigues, Elisete Pains Obtenção e seleção de mutantes Tn5 de *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Pal 5) com alterações na produção de auxinas / André Luiz Martinez de Oliveira, Marcia Soares Vidal, Jean Luiz Simões-Araújo, José Ivo Baldani. *Seropédica: Embrapa Agrobiologia*, 2007. 20 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agrobiologia, ISSN 1516-2311 ; 27)
- Ronquim, C. C. (2010). Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais.
- Rousk, J., Brookes, P. C., and Baath, E. (2009). Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(6), 1589-1596. doi:10.1128/aem.02775-08

- Rousk, J., E. Baath, P. C. Brookes, C. L. Lauber, C. Lozupone, J. G. Caporaso, R. Knight, and N. Fierer. 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *International Society for Microbial Ecology Journal* 4:1340-1351
- Ruiz, C. M., Roman, G., & Sanchez, J. L. (1996). A marine bacterial strain effective in producing antagonisms of other bacteria. *Aquaculture International*, 4, 289-291.
- Santos, M. S., Nogueira, M. A., and Hungria, M. (2019). Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express*, 9(1). doi:10.1186/s13568-019-0932-0
- Santoyo, G., Hernández-Pacheco, C., Hernández-Salmerón, J. and Hernández-León, R. (2017). The role of abiotic factors modulating the plant-microbe-soil interactions: toward sustainable agriculture. A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 15(1), e03R01, 15 pages (2017) doi:10.5424/sjar/2017151-9990
- Sarwar, M., & Kremer, R. J. (1995). Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. *Letters in Applied Microbiology*, 20(5), 282-285. doi:10.1111/j.1472-765x.1995.tb00446.x
- Schirawski J, Perlin MH. Plant-Microbe Interaction 2017-The Good, the Bad and the Diverse. *Int J Mol Sci*. 2018 May 5;19(5):1374. doi: 10.3390/ijms19051374. PMID: 29734724; PMCID: PMC5983726.
- Schlesinger, W. H. (1999). Carbon sequestration in soils. *Science*, 284(5423), 2095-2095.
- Scortichini, M. (2022). Sustainable management of diseases in horticulture: Conventional and new options. *Horticulturae*, 8(6), 517.
- Sharma, S., Kulkarni, J., & Jha, B. (2016). Halotolerant rhizobacteria promote growth and enhance salinity tolerance in peanut. *Frontiers in microbiology*, 7, 1600.
- Shultana, R., Kee Zuan, A. T., Yusop, M. R., & Saud, H. M. (2020). Characterization of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria and the effect on growth and yield of saline-affected rice. *PLoS One*, 15(9), e0238537.
- Silva, F. V. D., Melo Júnior, J. C. F. D., & Matilde-Silva, M. (2022). Padrões de herbivoria e estratégias de defesa de comunidades de restinga em gradiente edáfico. *Hoehnea*, 49.

Slama HB, Chenari Bouket A, Alenezi FN, Luptakova L, Baranov O, Ahadi R, Belbahri L. Impacts of Salt Stress on the Rhizosphere and Endophytic Bacterial Role in Plant Salt Alleviation. *International Journal of Plant Biology*. 2023; 14(2):361-376. <https://doi.org/10.3390/ijpb14020030>

Sobral, L. F., Barreto, M. D. V., da Silva, A. J., & Dos Anjos, J. L. (2015). Guia prático para interpretação de resultados de análises de solos.

Soesanto, L., Hartono, A. R. R., Mugiastuti, E., & Widarta, H. (2020). Seed-borne pathogenic fungi on some soybean varieties. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(9).

Song, Y., Ma, L., Zhang, H., Fu, R., Liang, X., Li, J., ...& Zhang, H. (2022). The diversity and structure of diazotrophic communities in the rhizosphere of coastal saline plants is mainly affected by soil physicochemical factors but not host plant species. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1100289.

Sultana, F., Hossain, M.M. (2022). Diseases of Vegetables Caused by *Phoma* spp. In: Rai, M., Zimowska, B., Kövics, G.J. (eds) *Phoma: Diversity, Taxonomy, Bioactivities, and Nanotechnology*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-81218-8_6