

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL
TOLERANTES À SALINIDADE ASSOCIADAS À *Blutaparon portulacoides* (A. St-Hil.)
Mears**

GABRIELA ALVES BRAZIL

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO -
UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2024

GABRIELA ALVES BRAZIL

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL
TOLERANTES À SALINIDADE ASSOCIADAS À *Blutaparon portulacoides* (A. St-Hil.)
Mears**

Dissertação apresentada ao Centro de
Biociências e Biotecnologia da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte
das exigências da obtenção do título de
Mestra em Biotecnologia Vegetal

Orientadora: Prof^ª Dr^a Maura Da Cunha

Coorientador: Dr Saulo Pireda

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

Março – 2024

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

B827

Brazil, Gabriela Alves.

Bactérias promotoras de crescimento vegetal resistentes à salinidade, associadas a *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears / Gabriela Alves Brazil. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2024.

70 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2024.

Orientadora: Maura da Cunha.

Coorientador: Saulo Pireda Fernandes.

1. Bioprospecção. 2. Biodiversidade Microbiana. 3. Microrganismos Halotolerantes. 4. Restinga. 5. Salinidade. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 660.6

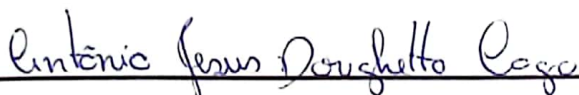
GABRIELA ALVES BRAZIL

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL TOLERANTES
À SALINIDADE ASSOCIADAS À *Blutaparon portulacoides* (A. St-Hil.) Mears**

Dissertação apresentada ao
Centro de Biociências e
Biotecnologia da Universidade
Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, como parte das
exigências da obtenção do título
de Mestra em Biotecnologia
Vegetal.

Aprovada em 18 de Março de 2024.

Comissão Examinadora:



Drº Antônio Jesus Dorighetto Cogo - UENF

Documento assinado digitalmente

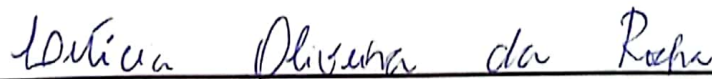


CLEITON DE PAULA SOARES

Data: 12/06/2024 08:01:29-0300

Verifique em <https://validar.dti.gov.br>

Drº Cleiton de Paula Soares - IFRR



Drª Leticia Oliveira da Rocha - UENF


Drº Saulo Piroda Fernandes – UENF (Coorientador)



Drª Maura Da Cunha UENF – (Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UENF e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal pela oportunidade de realização do mestrado. Expresso também minha gratidão aos profissionais do programa pelo suporte e orientação ao longo desse período. Seus conhecimentos e dedicação foram fundamentais para o meu desenvolvimento acadêmico.

À CAPES, CNPq, FAPERJ e às políticas públicas de fomento à pesquisa, meu sincero agradecimento pelo apoio financeiro concedido durante a realização deste projeto. Agradeço a minha orientadora Dr^a Maura Da Cunha e meu Coorientador Dr^o Saulo Pireda, por sua significativa contribuição para o meu crescimento profissional e pessoal. Desde a graduação eles e a sua equipe têm me guiado com críticas construtivas, conselhos e ensinamentos valiosos. Sou grata pelo conhecimento, confiabilidade e incentivo que me proporcionaram.

Além disso, gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos os meus amigos e colegas do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT) pelo apoio, colaboração e parceria ao longo desses anos. Seus conselhos sobre experimentos, presença e alegria diária foram fundamentais para o meu progresso acadêmico. Em particular, quero agradecer à Dra. Letícia Rocha pelo constante apoio no laboratório, e ao Prof. Dr. Fábio Olivares pela generosa acolhida em seu laboratório, onde pude conduzir grande parte dos experimentos. Sou imensamente grato pela orientação na pesquisa oferecida também pela Dra. Sara Sangi, Dra. Gabriela Petrocelli, Raffael Ribeiro, Beatriz Barcelos, João Petro e a toda equipe desse laboratório.

Agradeço também aos meus amigos, familiares e companheiro por terem me acompanhado de forma especial ao longo desse trajeto. Sem vocês essa jornada não teria sido tão valiosa.

RESUMO

Diante da fome e insegurança alimentar globais, a salinidade do solo agrícola representa uma ameaça adicional, especialmente em nações dependentes da agricultura. Isso pode levar à diminuição da produtividade agrícola e aumentar a dependência de importações alimentares. Portanto, a prospecção de bactérias halotolerantes promotoras do crescimento vegetal surge como uma alternativa na busca por opções sustentáveis. Este trabalho teve como objetivo prospectar bactérias associadas à *Blutaparon portulacoides* e avaliar sua capacidade de promoção de crescimento vegetal e resistência à salinidade. Para isto, os indivíduos foram coletados em um remanescente de restinga localizado em São João da Barra - RJ. O produto da maceração de 1 g de raiz, folha e colmo foi submetido à diluição seriada e plaqueado em meio sólido NB em diferentes concentrações de NaCl (0%, 5% e 20% (p/v), e meio de cultura semi-sólido JNFb para obtenção de bactérias diazotróficas. Os isolados selecionados foram testados quanto à capacidade de fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato de cálcio e solubilização de óxido de zinco e produção de compostos indólicos na presença e ausência de NaCl. Através das análises moleculares, foram identificadas 12 isolados halotolerantes. Desses, nove foram capazes de crescer em até 5% de NaCl (p/v): *Paramesorrhizobium deserti*, *Microbacterium* sp., *Bacillus siamensis*, *Aeromicrobium* sp., *Bacillus altitudinis*, *Enterobacter hormaechei*, *Bacillus safensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus velezensis*; dois foram capazes de crescer em até 10% de NaCl (p/v): *Nitrateductor kimnyeongensis*, *Isoptericola saltitolerans*; e uma foi capaz de crescer em até 20% de NaCl (p/v): *Salinicola tamaricis*, após análise deste isolado a curva de tolerância ao NaCl 0-30% NaCl (p/v). Todos os isolados identificados foram capazes de fixar nitrogênio no meio JNFb, enquanto apenas *S. tamaricis*, conseguiu fixar nitrogênio na presença de 5% de NaCl. Dos isolados testados, todos demonstraram capacidade de produzir compostos indólicos. Para o teste de solubilização de fosfato de cálcio os isolados *P. aeruginosa*, *P. deserti*, *B. velezensis*, *S. tamaricis*, *E. hormaechei* e *B. safensis* apresentaram capacidade de solubilização, enquanto as últimas três também apresentaram capacidade de solubilização em meio contendo 5% de NaCl. *Salinicola tamaricis* também foi testada quanto à capacidade de solubilização de fosfato de cálcio em concentrações crescentes de NaCl e apresentou resultados positivos em até 15% de NaCl. Após análise deste isolado, a curva de tolerância ao NaCl, variando de 0 a 30% (p/v), indicou que o mesmo foi identificado como capaz de tolerar até 25% de NaCl (p/v). Além disso, observou-se que *S. tamaricis* apresenta um crescimento melhor na presença de NaCl (5%), em comparação com o controle (0%). Apenas *P. aeruginosa* demonstrou

capacidade de solubilizar óxido de zinco na ausência de NaCl, enquanto nenhuma estirpe foi capaz de realizar essa solubilização em meio com NaCl. Os resultados deste estudo destacam o potencial da planta halófita *B. portulacoides* como uma fonte de microrganismos halotolerantes que podem promover o crescimento vegetal. As bactérias identificadas exibiram habilidades diversas, incluindo, fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato de cálcio e produção de compostos indólicos, mesmo em condições de salinidade. Esses achados reforçam a importância das espécies vegetais de restinga, como *B. portulacoides*, como fontes promissoras para a prospecção de microrganismos tolerantes a condições ambientais adversas.

Palavras-Chave: Bioprospecção; Biodiversidade Microbiana; Microrganismos Halotolerantes; Restinga; Salinidade.

ABSTRACT

Global hunger and food insecurity are exacerbated by soil salinity in agricultural lands, particularly affecting nations dependent on agriculture. Soil salinity can lead to reduced agricultural productivity and increased dependence on food imports. Thus, exploring halotolerant plant-growth-promoting bacteria emerges as an alternative in the search for sustainable options. This study aimed to prospect bacteria associated with *Blutaparon portulacoides* and evaluate their capacity for plant growth promotion and salinity resistance. For this purpose, specimens were collected from a coastal dune remnant in São João da Barra - RJ. The maceration product of 1 g of root, leaf, and stem was subjected to serial dilution and plated on NB solid medium at different NaCl concentrations (0%, 5%, and 20% w/v) and JNFb semi-solid medium to obtain diazotrophic bacteria. Selected isolates were tested for their ability to fix biological nitrogen, solubilize calcium phosphate, solubilize zinc oxide, and produce indolic compounds in the presence and absence of NaCl. Molecular analyses identified 12 halotolerant isolates. Among these, nine could grow in up to 5% NaCl (w/v): *Paramesorhizobium deserti*, *Microbacterium* sp., *Bacillus siamensis*, *Aeromicrobium* sp., *Bacillus altitudinis*, *Enterobacter hormaechei*, *Bacillus safensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus velezensis*; two in up to 10% NaCl (w/v): *Nitrateductor kimnyeongensis*, *Isoptericola saltitolerans*; and one in up to 20% NaCl (w/v): *Salinicola tamaricis*, following the analysis of this isolate's NaCl tolerance curve from 0-30% NaCl (w/v). All identified isolates were capable of nitrogen fixation in JNFb medium, while only *S. tamaricis* was able to fix nitrogen in the presence of 5% NaCl. All tested isolates demonstrated the capacity to produce indolic compounds. For the calcium phosphate solubilization test, the isolates *P. aeruginosa*, *P. deserti*, *B. velezensis*, *S. tamaricis*, *E. hormaechei*, and *B. safensis* showed solubilization ability, with the latter three also demonstrating this ability in a medium containing 5% NaCl. *Salinicola tamaricis* was also tested for its ability to solubilize calcium phosphate in increasing NaCl concentrations, and positive results of up to 15% NaCl were found. After analyzing this isolate, the NaCl tolerance curve, ranging from 0 to 30% (w/v), indicated that it could tolerate up to 25% NaCl (w/v). Additionally, it was observed that *S. tamaricis* exhibits better growth in the presence of NaCl (5%), compared to the control (0%). Only *P. aeruginosa* demonstrated the ability to solubilize zinc oxide in the absence of NaCl, while no strain was able to perform this solubilization in a medium with NaCl. The results of this study highlight the potential of the halophyte *B. portulacoides* as a source of halotolerant microorganisms that can promote plant growth. The identified bacteria exhibited diverse

abilities, including nitrogen fixation, calcium phosphate solubilization, and indolic compound production, even under saline conditions. These findings underscore the importance of coastal dune plant species, such as *B. portulacoides*, as promising sources of microorganisms tolerant to adverse environmental conditions.

Keywords: Bioprospecting; Microbial Biodiversity; Halotolerant Microorganisms; Coastal Sand Dunes; Salinity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.2 A Restinga.....	16
2.3 O Microbioma Vegetal.....	17
2.4 Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal e Estresse Salino.....	19
2.4.3 Solubilização de Fosfato.....	23
2.4.4 Solubilização de óxido de Zinco.....	25
2.5 <i>Blutaparon portulacoides</i> (A. Saint-Hil.) Mears.....	26
3. OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivos Específicos.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Caracterização da Área de Estudo.....	29
4.4 Extração de DNA amplificação do gene 16S rDNA por qPCR e Identificação dos isolados microbianos.....	33
4.5 Ensaio de tolerância à salinidade.....	34
4.6 Avaliação da fixação de nitrogênio em meio JNFb com e sem adição de NaCl.....	34
4.7 Avaliação da solubilização de fosfato de cálcio em meio sólido com e sem adição de NaCl.....	35
4.8 Avaliação da produção de compostos indólicos com e sem adição de NaCl.....	35
4.9 Solubilização de óxido de zinco com e sem adição de NaCl.....	37
4.10 Avaliação da tolerância bacteriana do isolado CaRJ75 ao NaCl em concentrações crescentes de NaCl por meio da curva de crescimento	37
4.11 Análise da solubilização de fosfato de cálcio pelo isolado CaRJ75 em meio sólido sob diferentes concentrações de NaCl.....	38
4.12 Análises estatísticas.....	38
5. RESULTADOS.....	40
5.1 Isolamento de bactérias associadas à <i>Blutaparon portulacoides</i> tolerantes à salinidade.....	40
5.2 Análises preliminares dos consensos unificados.....	40
5.3 Tolerância à salinidade.....	41
5.4 Fixação Biológica de Nitrogênio.....	41
5.5 Solubilização de Fosfato de Cálcio.....	42
5.6 Produção de compostos indólicos triptofano-dependente e triptofano-independente com e sem adição de NaCl.....	43
5.7 Solubilização de Óxido de Zinco.....	45
5.8 Análise conjunta das características de promoção de crescimento dos isolados associados à <i>Blutaparon portulacoides</i>	45
5.9 Avaliação da resistência de <i>Salinicola tamaricis</i> (CaRJ75) à crescentes concentrações de NaCl.....	48

5.10 Avaliação da Solubilização de Fosfato de Cálcio $[Ca_3(PO_4)_2]$ por <i>Salinicola tamaricis</i> (CaRJ 75) em Meios com Gradientes Crescentes de NaCl.....	48
6. DISCUSSÃO.....	50
6.1 Isolamento de bactérias associadas a plantas halófitas.....	50
6.2 Fixação Biológica de Nitrogênio.....	51
6.3 Bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico.....	52
6.4 Produção de compostos indólicos.....	53
6.5 Solubilização de óxido de zinco.....	54
6.6 A resistência de <i>Salinicola tamaricis</i> às crescentes concentrações de NaCl.....	55
7. CONCLUSÕES	56
8. REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

O mundo, atualmente, gera uma quantidade suficiente de alimentos para suprir as necessidades de toda a população global. No entanto, dados de 2020 indicam que aproximadamente 786 milhões de pessoas enfrentaram a fome, e cerca de 2,4 bilhões experimentaram algum grau de insegurança alimentar, seja moderada ou grave (FAO, 2021; Wilmoth, Menozzi & Bassarsky, 2021). Importante destacar que a fome e a insegurança alimentar estão intrinsecamente ligadas à pobreza, afetando especialmente aqueles que encontram barreiras significativas para acessar quantidades adequadas de alimentos seguros e nutritivos, sobretudo em nações de baixa ou média-baixa renda (Heger, Zens & Bangalore, 2020).

Em países onde a agricultura desempenha um papel fundamental como fonte primária de subsistência, a salinidade do solo emerge como um fator de impacto substancial na segurança alimentar (Kumar & Sharma, 2020). A redução da produtividade agrícola devido à salinidade do solo pode resultar em menor renda para os agricultores, aumentando a insegurança alimentar e a dependência de importações de alimentos (Sultan, Mahmud & Khan, 2023). Além disso, a falta de acesso a recursos financeiros e tecnológicos adequados para lidar com a salinidade do solo representa um obstáculo significativo para os agricultores em países pobres (Sing, 2020; Molotoks, Smith & Dawson, 2021). Portanto, a gestão eficaz da salinidade do solo é crucial para reduzir a pobreza e garantir a segurança alimentar nessas regiões (Daba & Qureshi, 2021).

Além disso, a instabilidade nos mercados globais de alimentos, intensificada por eventos como a guerra na Ucrânia, destaca a fragilidade desses sistemas e ressalta a urgência de estratégias que assegurem a estabilidade e acessibilidade dos alimentos, especialmente em contextos de instabilidade geopolítica e econômica (Abay et al., 2023; Leal Filho et al., 2023; Zang et al., 2023). A busca por soluções sustentáveis não apenas responde aos desafios ambientais, mas também se torna uma necessidade imperativa para mitigar as instabilidades nos sistemas alimentares globais (Rabbi et al., 2023).

Nesta perspectiva, pesquisas extensivas em todo o mundo têm sido realizadas para desenvolver estratégias para lidar com o estresse salino, como o desenvolvimento de cultivares tolerantes ao sal, manejo de água e do solo, melhorias na eficiência do uso da água, bioengenharia e modificação genética, além do uso de microrganismos benéficos (Singh et al., 2016; Liu et al., 2019; Morton et al., 2019; Wani et al., 2019; Munir et al., 2021).

A utilização de microrganismos tolerantes ao sal, capazes de promover o crescimento vegetal sob condições de estresse salino, emerge como uma alternativa promissora na tolerância a salinidade em culturas agrícolas e recuperação de solos (Kearl et al., 2019; Yang et al., 2020). Essa abordagem não só atenua as necessidades de variedades resistentes a salinidade, mas também reduz a pressão sobre as terras agrícolas (Etesami & Glick, 2020). Além disso, a prospecção e identificação de microrganismos tolerantes à salinidade abrem novas perspectivas para a descoberta de mecanismos envolvidos na resistência ao estresse salino (Soussi et al., 2016; Etesami & Beattie, 2018).

A eficiência desses microrganismos na promoção de resistência das plantas a estresses ambientais está relacionada a aspectos ecológicos e genéticos, incluindo a dinâmica interação com a flora microbiana, clima e características físico-químicas do solo (Etesami et al., 2020; Li et al., 2021; Hartmann & Six, 2023). Além disso, comprovou-se que as comunidades bacterianas são específicas para seus hospedeiros vegetais, e que, em certa medida, os hospedeiros são capazes de determinar a composição de seus microbiomas (Hassani, Durán & Hacquard, 2018; Trivedi et al., 2020).

A eficiência desses microrganismos na promoção de resistência das plantas a estresses ambientais está relacionada a aspectos ecológicos e genéticos, incluindo a dinâmica interação com a flora microbiana, clima e características físico-químicas do solo (Etesami et al., 2020; Li et al., 2021; Hartmann & Six, 2023). Comprovou-se também que as comunidades bacterianas são específicas para seus hospedeiros vegetais, e que, em certa medida, os hospedeiros são capazes de determinar a composição de seus microbiomas (Hassani, Durán & Hacquard 2018; Trivedi et al., 2020).

Plantas expostas a estresses abióticos, como o estresse salino, podem recrutar e selecionar bactérias específicas para mitigar os efeitos da salinidade através de vários mecanismos. Essas interações são cruciais para a saúde das plantas, influenciando desde a disponibilidade de nutrientes até a resposta imune contra patógenos (Hassani, Durán & Hacquard, 2018; Trivedi et al., 2020; Ali et al., 2022). A colonização por microrganismos benéficos também pode desencadear uma resposta de resistência sistêmica nas plantas, aumentando sua capacidade de defesa contra diversos patógenos (Chauhan et al., 2019; Liu et al., 2024). Além disso, estudos têm demonstrado que essa interação pode afetar a expressão gênica das plantas, influenciando sua resposta a estresses ambientais. A observação de um grande número de genes com expressão alterada em plantas submetidas a estresse salino e colonização bacteriana sugere o papel essencial desses microrganismos na promoção da tolerância sistêmica nas plantas (Liu et al., 2017; Sharma et al., 2019; Heydarian et al., 2021).

Um dos ecossistemas sob influência de uma ampla gama de condições ambientais adversas são as vegetações da Restinga, que estão submetidas a altos índices de salinidade do solo, déficit hídrico, vento constante, alta irradiância e falta de nutrientes (Scarano et al., 2002; Marques et al., 2015; Cooper et al., 2017). As plantas que se consolidaram nessa formação, principalmente as que se instalam mais próximas ao mar, selecionam inúmeras adaptações anatômicas e fisiológicas, incluindo superfícies foliares menores, aumento de tecidos parenquimáticos, produção de raízes adventícias, estolões e rizomas, para melhorar o armazenamento e captação de água e nutrientes (Dickson, 2000; Kuster et al., 2018; Green & Miller, 2019). *Blutaparon portulacoides* (A. St.-Hil.) Mears (Amaranthaceae) é uma das espécies mais frequentes e indicadoras da vegetação de restinga. Trata-se de uma angiosperma halófito, reconhecida por sua natureza pioneira, que se estabelece na faixa entre as zonas de marés e dunas, sob forte influência fluviomarinha (Assumpção & Nascimento, 2000).

A busca de novas bactérias com aplicabilidade biotecnológica tem respaldo crescente nas pesquisas, visando o desenvolvimento de uma agricultura sustentável. Partindo dessa premissa, o presente trabalho busca prospectar bactérias associadas a *B. portulacoides* resistentes ao estresse salino com fatores de promoção de crescimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Solos afetados por sais

A salinidade representa um dos fatores ambientais mais severos que limitam a produtividade das culturas agrícolas (Shrivastava & Kumar, 2015). A sensibilidade da maioria das culturas à salinidade, causada por altas concentrações de sais no solo, resulta em um custo estimado de cerca de 12 bilhões de dólares anualmente, um valor que se espera que aumente com o agravamento dos solos afetados (Gnassemi et al., 1995; Etesami & Beattie, 2018). Além do impacto financeiro, a salinidade acarreta sérias consequências para as infraestruturas, o abastecimento de água, as relações sociais, estrutura e estabilidade das comunidades (Dasgupta et al., 2015; Kumar & Sharma, 2020).

Registros históricos evidenciam o colapso de diversas civilizações devido ao aumento da salinidade nos campos agrícolas, sendo a Mesopotâmia (atual Iraque) um exemplo notável (Pitman & Läuchli, 2002; Zaman et al., 2018). A salinidade compromete os recursos fundamentais ao diminuir a qualidade do solo, podendo ocorrer por causas naturais ou devido ao uso inadequado e má gestão, ameaçando a capacidade autorreguladora do solo (Sing et al., 2021)

A salinização do solo é um fenômeno multifatorial que impacta negativamente o crescimento vegetal de diversas maneiras (Panhwar et al., 2019). O acúmulo de sais solúveis na camada superficial do solo desencadeia efeitos adversos, como toxicidade dos sais, redução da disponibilidade hídrica, desorganização da estrutura do solo e competição iônica (Arif et al., 2020; Hartmann & Six, 2023). Essa condição compromete a absorção de nutrientes essenciais pelas raízes, como fósforo, nitrogênio, potássio e magnésio, devido à formação de complexos insolúveis, que reduzem a disponibilidade desses nutrientes para as plantas (Abbas et al., 2019; Arora et al., 2020).

De modo geral, a salinização do solo possui origens primárias e secundárias (Gnassemi et al., 1995). A origem primária está relacionada a processos naturais de longo prazo, resultando no gradual acúmulo de sais no solo ou nas águas superficiais (Butcher et al., 2016). Esse fenômeno é influenciado pela intemperização de rochas ou sedimentos com alto teor de sais, liberando sais solúveis. Em regiões áridas, a concentração progressiva de sais ocorre devido à baixa precipitação e às elevadas taxas de evaporação e transpiração. Adicionalmente, depósitos fósseis de sais, provenientes de ambientes marinhos e lacustres, desempenham um papel crucial na salinização (Steiger et al., 2011; Yadav et al., 2011;

Montoroi, 2018). Nas regiões costeiras, a intrusão da água do mar e a influência de ventos carregados de sal afetam significativamente essas áreas, aumentando os níveis de salinidade (Hassani, Azapagic & Shokri 2021; Singh, 2021).

A salinização secundária está predominantemente associada a práticas inadequadas de irrigação (Abebe et al., 2015; Gebrehiwot, 2018). O emprego inadequado de água salina, juntamente com deficiente drenagem e elevação do lençol freático, propicia a salinização de terras e recursos hídricos (Mohanavelu, Nagana & Al-Ansari, 2021). A extração excessiva de água subterrânea transporta sais à superfície do solo, precipitando-se durante a evaporação (Salama, Otto & Fitzpatrick 1998; Angelakis et al., 2020). O uso intensivo de agroquímicos, como fertilizantes, também pode contribuir para a salinização (Cuevas et al., 2019). Além disso, alterações no uso da terra, como a transição de florestas naturais para cultivos anuais, resultam na diminuição da evapotranspiração e na intensificação da lixiviação (Egamberdieva et al., 2010; Shahid, Zaan & Heng, 2018).

Aproximadamente 340 milhões de hectares de terras ao redor do mundo são irrigados, representando cerca de 38% do valor da produção agrícola mundial (Rengasamy, 2006; Fraiture & Wichelns, 2010). Regiões com menor irrigação e temperaturas mais elevadas enfrentam aumentos significativos nos níveis de salinidade, afetando cerca de 33% das terras agrícolas irrigadas globalmente e 20% da área total cultivada (Mohanavelu, Naganna & Al-Ansari, 2021). Previsões indicam a possibilidade de paisagens mais salinas devido às mudanças climáticas (Hassani, Azapagic & Shokri, 2021). Para 2050, estima-se que mais de 50% das terras agrícolas aráveis podem estar sujeitas à salinização (Jamil et al., 2011). A salinização do solo impacta aproximadamente 424 milhões de hectares, dos quais 76,6 milhões correspondem áreas cultivadas em todo o mundo, com cerca de 30 milhões de hectares associados à salinização secundária (Kumar & Sharma 2020; FAO, 2021).

Além disso, o relatório do IPCC50 (Intergovernmental Panel on Climate Change) indica que as mudanças climáticas terão impacto em todos os mecanismos primários de salinização do solo, incluindo a acumulação de sais solúveis devido a alterações no equilíbrio hidrológico, intrusão de sal marinho e deposição de sal causada pelo vento (Bates, Kundzewicz & Wu, 2008; Hassani, Azapagic & Shokri, 2021). Além disso, estima-se que o aumento na taxa de evapotranspiração e as alterações nos padrões de precipitação, especialmente em áreas áridas e semiáridas, diminuirão a eficiência de lixiviação do solo, aumentando assim as concentrações de sal nos horizontes superiores do solo (Hassani, Azapagic & Shokri, 2020).

A expansão das áreas irrigadas e a crescente demanda por água, associadas ao aumento das temperaturas globais e práticas inadequadas de drenagem/irrigação, são esperadas para contribuir para a disseminação da salinização secundária (Pitman & Läuchli, 2002; Hassani, Azapagic & Shokri, 2021). Mudanças no uso do solo e eventos climáticos extremos, como secas prolongadas seguidas de inundações severas, têm o potencial de liberar e redistribuir grandes quantidades de sais de substratos geológicos com elevada concentração de sais, colocando novas áreas em risco de salinização do solo (Dasgupta et al., 2015; Wang, Gong & Xing, 2020;). Além disso, o aumento do nível do mar e a extração insustentável de recursos de água doce de aquíferos costeiros podem agravar o problema da salinização do solo induzida pela água do mar em regiões costeiras (Mondal et al., 2023; Sarkar et al., 2024).

2.2 A Restinga

A Restinga, distinta por suas diversas formas vegetais, compõe um intrincado mosaico ecológico. Este ecossistema, formado por espécies herbáceas, arbustos e árvores, emerge nas planícies arenosas, originadas de regressões marinhas durante o período Quaternário (Scarano, 2002; 2009). A paisagem da Restinga evolui desde vegetação rasteira e herbácea nas proximidades do mar, passando por formações arbustivas, até manifestar-se em características florestais à medida que se afasta do litoral. A proximidade frequente entre essas distintas comunidades, como observado por Marques et al. (2015), não apenas reflete uma rica diversidade, mas também ressalta a dependência desses ecossistemas das condições edáficas, desempenhando, simultaneamente, um papel vital na estabilização do substrato (Assumpção & Nascimento, 2000).

A proximidade ao mar impõe desafios significativos à vegetação da Restinga, como alto índice de salinidade no solo, especialmente nas áreas entre marés. O déficit hídrico e a escassez de nutrientes são resultado da alta percolação dos solos arenosos. As altas temperaturas, irradiância intensa e a baixa umidade relativa do ar são influenciadas pelo espaçamento predominante das vegetações, composto principalmente por moitas espaçadas que não constituem um dossel fechado (Assumpção & Nascimento, 2000; Schwinning & Ehleringer, 2001; Pireda et al., 2019). Essas condições adversas tornam-se ainda mais evidentes nas zonas de vegetação herbáceas e rasteiras, onde a incidência de radiação solar é mais intensa, a fertilidade do solo é baixa, e há contato constante com o mar.

Dada a singularidade desse ambiente, acredita-se que a microbiota do solo desempenhe um papel fundamental no desenvolvimento das espécies vegetais locais. Pinto et al. (2020) observaram que, nas zonas de vegetação herbáceas e rasteiras, sujeitas a maior

incidência de radiação solar, baixa fertilidade e contato constante com o mar, predominam grupos microbianos mais heterogêneos e específicos, adaptados às condições locais. Essa seleção de microbiomas específicos pode conferir resistência às condições abióticas, auxiliando na mitigação do estresse salino, o que é crucial para o estabelecimento das espécies vegetais (Marasco et al., 2016).

A capacidade da vegetação de restinga em se estabelecer sob condições adversas, especialmente em áreas de maior influência fluviomarinha, oferece uma grande oportunidade para estudar a influência desses fatores abióticos na estrutura do microbioma vegetal, especialmente em um país com uma extensa linha costeira (Costa & Herreira, 2016). Esses microrganismos desempenham um papel essencial na saúde e no crescimento das plantas, auxiliando na absorção de nutrientes, na resistência a doenças e no desenvolvimento radicular (Sharma et al., 2016; Yuan et al., 2016; Etesami & Beattie, 2018). Portanto, a pesquisa sobre os microrganismos associados à vegetação de restinga não apenas contribui para a compreensão da biodiversidade desses ecossistemas costeiros, mas também oferece oportunidades para a descoberta de novos compostos e agentes promotores do crescimento vegetal, com potencial aplicação em diversos setores, incluindo agricultura, medicina e indústria.

2.3 O Microbioma Vegetal

Durante o seu ciclo de vida, as plantas confrontam diversos desafios, tanto de natureza biótica quanto abiótica (Rejebe, Pastor & Mauch-Mani, 2014). Pressões bióticas incluem a presença de fungos patogênicos, nematoides, vírus e insetos, enquanto, no contexto abiótico, as plantas enfrentam condições adversas, como seca, alta salinidade e temperaturas extremas (Dangl & Jones, 2001; Gong *et al.* 2020; Liu & Wang, 2021). Esses fatores impõem complexas restrições ao desenvolvimento e à adaptação das plantas em seus ambientes específicos (Calvo et al., 2020).

Cada vez mais evidências indicam a coevolução das plantas com microrganismos, desenvolvendo uma variedade de estratégias (Abdelfattah et al., 2021; Delaux & Schornack, 2021). Nesse processo evolutivo, as plantas incorporaram microrganismos que desempenham funções cruciais na funcionalidade e aptidão do hospedeiro vegetal (Mesny, Hacquard & Thomma, 2023). Esses papéis englobam aquisição de nutrientes do solo, controle de agentes patogênicos e tolerância ao estresse abiótico (Liu et al., 2019; Irfan et al., 2023). As comunidades microbianas associadas às plantas são referidas como microbiota vegetal e são

moldadas por complexas interações entre a planta hospedeira, os microrganismos e o ambiente (Tuner et al., 2013).

A microbiota vegetal compreende comunidades microbianas presentes tanto na superfície (epifíticos) quanto no interior das plantas (endofíticos) (Hardoim et al., 2015). Os microrganismos que habitam a superfície incluem aqueles encontrados na rizosfera e na filosfera (Bachir et al., 2022; Vandana et al., 2023). A rizosfera, região do solo influenciada pelas raízes, configura-se como um nicho propício para a sobrevivência de microrganismos, onde os nutrientes são mais acessíveis e ocorre uma intensa interação (Berendsen et al., 2012). Por outro lado, a filosfera, compreendendo a parte aérea da planta, requer uma colonização bem-sucedida por microrganismos, demandando habilidades para enfrentar estresses bióticos e abióticos, como radiação UV, chuva, vento e competição por recursos (Xu et al., 2022). Os microrganismos na rizosfera e filosfera são categorizados como epífitos, enquanto os que residem no tecido vegetal, na endosfera, são conhecidos como endófitos (Turner et al., 2013).

A rizosfera configura-se como ambiente dinâmico. Neste contexto, as atividades secretoras do sistema radicular, como a liberação de células da borda da coifa, secreção de mucilagem e exsudatos radiculares, estabelecem condições distintas, tanto físico-químicas quanto biológicas (Walker et al., 2003; Zhahnina et al., 2018). Através desses processos, uma considerável quantidade de carbono, fixada fotossinteticamente pelas plantas, é liberada pelas raízes, atraindo microrganismos e fornecendo nutrientes (Kawasaki et al., 2021; Guyonnet, Cantarel & Simon, 2018).

Esses exsudatos radiculares desempenham um papel crucial na formação da microbiota bacteriana específica da rizosfera (Sasse, Martinoia & Northen, 2017; Kawasaki et al., 2021). Essa comunidade não apenas mitiga os efeitos de estressores bióticos e abióticos, mas também pode desencadear respostas benéficas (Pascale et al., 2020). Os microrganismos presentes na rizosfera podem formar biofilmes, secretar moléculas como fitohormônios, osmólitos e antioxidantes, e modular a ciclagem de nutrientes. Essas ações contribuem para a promoção do crescimento e saúde da planta, além de conferirem resistência a condições adversas no ambiente rizosférico (Kudoyarova et al., 2019; Mohanram & Kumar, 2019; Sasse, Martinoia & Northen, 2017).

Embora a identificação de regras de montagem para comunidades bacterianas e fúngicas seja desafiadora, devido à complexidade de fatores bióticos e abióticos envolvidos, diversos estudos destacam que o genótipo da planta e o ambiente são fatores importantes que influenciam a composição microbiana na filosfera e rizosfera. Essa evidencia sugere que

características específicas do hospedeiro podem direcionar as espécies que compõem seus microbiomas (Trivedi et al., 2020; Lambais et al., 2014).

No contexto das plantas halófitas, a coevolução de longo prazo entre essas espécies tolerantes ao sal e sua microbiota associada tem revelado interações complexas e dinâmicas, desempenhando um papel fundamental na adaptação dessas plantas ao ambiente salino. Estudos, como o realizado por Yuan et al., (2016) na rizosfera da planta halófita *Suaeda salsa* (L.) Pall. (Amaranthaceae), identificaram genes relacionados à aclimação ao estresse salino e à solubilização de nutrientes em solos salinos costeiros. Esses achados ressaltam o potencial desses microrganismos na promoção da gestão sustentável de solos afetados pelo sal (Zhang et al., 2023).

A relevância dos solos salinos, como encontrados na Restinga, destaca-se por proporcionarem ambientes específicos favoráveis a uma diversidade de microrganismos tolerantes ao sal (Etesami & Beattie, 2018). Essa característica singular tem possibilitado o isolamento bem-sucedido de inúmeros microrganismos promotores do crescimento de plantas, com eficácia comprovada na agricultura e na recuperação de solos degradados (Etesami & Glick, 2020; Gupta & Pandey, 2020).

A exploração do microbioma de plantas nativas não domesticáveis da Mata Atlântica na Restinga revela-se um grande potencial de recursos genéticos, pois essas plantas podem abrigar microrganismos adaptados às condições específicas desse ecossistema, oferecendo *insights* valiosos para estratégias de conservação e manejo sustentável diante dos desafios ambientais globais.

2.4 Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal e Estresse Salino

Bactérias que promovem o crescimento das plantas (BPCVs) constituem um grupo importante capazes de estabelecer relações simbióticas específicas com as plantas, influenciando positivamente seu metabolismo e aumentando a produtividade vegetal (Pandey et al., 2023). Sua capacidade de promover o crescimento das plantas geralmente se manifesta através do controle dos hormônios de sinalização, combate a cepas microbianas patogênicas e aumento da disponibilidade de nutrientes no solo (Jali & Ansari, 2018; Gao et al., 2021). Essa habilidade, no entanto, é influenciada por fatores ambientais, como clima, características edáficas como salinidade e escassez hídrica, e interações com a flora microbiana do solo (Tuner et al., 2012).

Esses microrganismos são particularmente promissores devido à sua resistência ao sal e capacidade de promover o crescimento das plantas em ambientes salinos. Sua atuação

pode incluir três níveis interligados: a sobrevivência em ambientes salinos, o estímulo à tolerância ao sal nas plantas e a melhoria da qualidade do solo. Segundo o estudo revisional de Etesami & Glick, (2000) que investigou a interação entre bactérias halófilicas e plantas halófitas, foram identificados uma notável diversidade de microrganismos associados a diversas espécies tais como *Salicornia rubra*, *Sarcoconia uta-hensis*, *Allenrolfea occidentalis*, *Ruga rugosa*, *Salicornia brachiata*, *Halocnemum strobilaceum*, *Acacia ssp.*, *Salicornia strocksju*, *Atriplex amnicola*, *Sesuvium portulacastrum*, *Avicennia marina* e *Salicornia bigelovii*. A abundância e biodiversidade das bactérias isoladas incluíram predominantemente os gêneros *Halomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Oceanobacillus*, *Pseudomonas*, *Marinococcus*, respectivamente.

A aplicação desses microrganismos tem o potencial de aliviar o estresse salino nas plantas através da elicitação de vários mecanismos fisiológicos e moleculares. Isso inclui a modificação nos sistemas radiculares, como a inoculação de *Bacillus tequilensis* em arroz (Shultana et al., 2020), indução da maquinaria antioxidante, como o aumento de catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) (Leontidou et al., 2020); produção de exopolissacarídeos (EPS), que reduz a absorção de (Na^+) pelas plantas, aumentando a retenção de água no solo (Haque et al., 2022), modulação de hormônios vegetais como a produção de ácido indol-3-acético e o ácido giberélico e a redução da produção de etileno, através da produção da enzima ACC desaminase por *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas florentis* em trigo (Sofy et al., 2021), síntese de osmólitos, absorção de minerais e controle de fitopatógenos (Sharma et al., 2019; Arora et al., 2020).

Adicionalmente, esses microrganismos também desempenham um papel crucial na biodisponibilidade de nutrientes, promovendo mecanismos como a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fósforo e potássio, e a produção de sideróforos para a absorção de ferro (Marasco et al., 2016; Etesami & Beattie, 2018; Etesami & Glick, 2020).

2.4.1 Fixação Biológica de Nitrogênio

O nitrogênio (N), um macro-nutriente essencial para todas as formas de vida, ocupa a quarta posição entre os elementos mais demandados pelas plantas, uma vez que desempenham funções cruciais em diversos processos fisiológicos vegetais, como fotossíntese, respiração, crescimento e diferenciação celular (Davies-Barnard & Friedlingstein, 2020). Além disso, constitui um elemento vital de macromoléculas, incluindo enzimas, proteínas, ácidos nucleicos, proteínas de armazenamento e de paredes celulares (Zhang et al., 2020). Por meio de sua influência no metabolismo do carbono, o nitrogênio

também exerce um papel fundamental no controle da produtividade primária, no sequestro de carbono do ecossistema e na regulação das alterações climáticas (Niu et al., 2023).

Na atmosfera terrestre, o N_2 é altamente abundante, correspondendo a 78% do total na forma de gás dinitrogênio (N_2) (Erisman et al., 2015). Contudo, apesar da sua abundância, o N_2 na forma inorgânica, caracterizado por sua ligação tripla estável, não é prontamente utilizável pelas plantas devido à natureza estável dessa molécula (Seefeldt et al., 2020). A estabilidade dessa ligação tripla exige uma quantidade significativa de energia para ser rompida, tornando o N_2 atmosférico inacessível para a maioria das plantas em seu estado natural (Bernhard, 2010). Em resposta a essa limitação, foi desenvolvido o processo industrial conhecido como método Haber-Bosch, que viabiliza a produção em larga escala de amônia, uma forma de nitrogênio prontamente assimilável pelas plantas em fertilizantes (Smil, 2004). Contudo, o método possui desafios significativos, que não só geram custos altos, mas também causam impactos ambientais negativos, incluindo a liberação de gases de efeito estufa, poluição do ar e uso de recursos não renováveis (Bauer, Tsigaridis & Miller, 2016).

A necessidade de aumentar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) para equilibrar o aumento do carbono destaca a importância de explorar estratégias alternativas (Bhattacharjee, Biswas & Mukhopadhyay, 2008). A busca por métodos sustentáveis, como a FBN, torna-se crucial para mitigar os impactos negativos nos ecossistemas e na agricultura, promovendo uma abordagem mais sustentável no ciclo do nitrogênio (Soumare et al., 2020).

A fixação de nitrogênio é um processo metabólico exclusivo de organismos procarióticos, sendo realizada por uma diversidade filogenética de microrganismos que ocupam domínios Bacteriano e Archaea (Raymond et al., 2004). Devido à estabilidade da ligação tripla do N_2 , os organismos diazotróficos usam a enzima nitrogenase, uma metaloenzima rica em ferro, estruturalmente complexa, juntamente com quantidades significativas de ATP e redutor, para realizar a conversão de N_2 em amônia (Hoffman et al., 2014). Isso contrasta de maneira significativa com as altas temperaturas e pressões necessárias para a fixação abiótica do N_2 usando o processo Haber-Bosch (Zhang, Ward & Sigman, 2020).

Existem três modalidades de FBN: vida livre, associativa e simbiótica. Na fixação de N_2 de vida livre, os diazotróficos operam de maneira independente, ou seja, sem a necessidade de uma associação com plantas. Durante a fixação livre de nitrogênio, bactérias diazotróficas, incluindo microrganismos fixam nitrogênio para uso em condições microaeróbicas (Soumare et al., 2020). Na fixação de nitrogênio associativa, os diazotróficos que vivem na superfície ou no interstício da planta hospedeira usam os produtos

fotossintéticos da planta como fonte de carbono para fixar nitrogênio para seu próprio uso, fornecendo assim excedente para o hospedeiro; esses microrganismos incluem *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas stutzeri* (Pankiewicz et al., 2019; Soumare et al., 2020). Durante a fixação simbiótica de nitrogênio, as bactérias diazotróficas presentes nas células dos órgãos vegetais, como os nódulos radiculares, utilizam os produtos fotossintéticos do hospedeiro como fonte de energia e fixam o nitrogênio para apoiar o crescimento e o desenvolvimento do hospedeiro.

Entretanto, a salinidade também resulta em baixa atividade microbiana no solo, devido ao estresse osmótico e toxicidade de íons, limitando os benefícios da fixação biológica de N_2 . As BPCV de N_2 e adaptadas à salinidade têm a capacidade de suportar o estresse osmótico por meio da produção de osmólitos, garantindo a manutenção do turgor celular e do metabolismo (Yan et al., 2015). A fixação de N_2 por bactérias tolerantes ao sal associadas às raízes de halófitas constitui uma fonte importante de nitrogênio disponível em solos salinos. Além disso, essas raízes abrigam bactérias fixadoras de N_2 halotolerantes, capazes de estimular o crescimento vegetal (Etesami & Beattie, 2018).

2.4.2 Produção de compostos indólicos

A regulação das atividades fisiológicas das plantas é mediada por uma variedade de hormônios vegetais, que podem ser classificados em dois grandes grupos: promotores de crescimento e inibidores de crescimento. Entre os promotores de crescimento, destacam-se as auxinas, as giberelinas e as citocininas (Duca & Glick, 2020; Guleria et al., 2019). As auxinas, por exemplo, desempenham um papel crucial no crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo o ácido-3-indolacético (AIA) a forma mais comum e biologicamente ativa desses hormônios. O L-triptofano, através do ácido indol-3-pirúvico ou triptamina, é principalmente uma molécula precursora que contribui para a formação do AIA. (Spaepen & Vanderleyden, 2011; Alkhalaf & Ryan, 2015).

É interessante notar que diversos microrganismos benéficos presentes na rizosfera, como as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, são capazes de produzir fitohormônios semelhantes aos encontrados nas plantas, como o AIA (Spaepen & Vanderleyden, 2011). Esses fitohormônios desempenham um papel crucial na promoção do crescimento vegetal, o que pode ser vantajoso para os microorganismos ao estabelecerem interações com as plantas hospedeiras (Xu et al., 2023). Além disso, a produção de fitohormônios pode conferir às bactérias uma vantagem competitiva na rizosfera, facilitando a colonização e a sobrevivência nesse ambiente complexo (Kumar et al., 2020).

Supõe-se ainda que mais de 80% das bactérias isoladas da rizosfera são capazes de sintetizar AIA (Patten & Glick, 1996; Khalid et al., 2004). A produção desse hormônio pelas bactérias pode desempenhar um papel significativo na adaptação ao ambiente e na interação com as plantas hospedeiras, especialmente em condições de estresse, como a presença de NaCl (Shahzad et al., 2017). Estudos indicam que o aumento da produção de AIA pelas bactérias pode melhorar a tolerância das plantas e das próprias bactérias ao estresse salino, resultando em uma interação mais eficaz entre esses organismos e em benefícios mútuos para ambos (Khan et al., 2020; Saleem et al., 2021; Trung et al., 2022). Isso ressalta a importância do AIA na interação simbiótica e na sustentabilidade dos ecossistemas.

Além disso, a síntese do AIA, está diretamente ligada à disponibilidade de triptofano (Spaepen & Vanderleyden, 2011). A maioria das bactérias é capaz de produzir triptofano, uma vez que esse aminoácido é crucial para seu crescimento e sobrevivência (Patten, Blakney e Coulson, 2012). No entanto, algumas bactérias, conhecidas como auxotróficas para triptofano, não possuem as vias metabólicas completas para a síntese desse aminoácido e dependem de fontes externas para atender às suas necessidades nutricionais (Idris, Talon e Borris, 2007; Spaepen & Vanderleyden, 2011).

A relação entre triptofano e AIA também é observada na interação simbiótica entre bactérias e plantas. Estudos demonstraram que as bactérias benéficas promotoras do crescimento das plantas têm a capacidade de secretar compostos químicos, como o AIA, que atuam como fitohormônios, estimulando o crescimento das plantas (Duca e Glick, 2020; Keswani et al., 2020). Essa produção aumentada de AIA pelas bactérias pode ser estimulada pela presença de triptofano, secretado naturalmente nos exsudatos das plantas, evidenciando uma interação simbiótica entre os organismos (Kravchenko et al., 2002; Jiang et al., 2022). Portanto, a relação entre triptofano e AIA desempenha um papel crucial na interação entre bactérias e plantas, influenciando não apenas o crescimento das plantas, mas também a dinâmica dos ecossistemas e a promoção da saúde vegetal. Essa compreensão é fundamental para a agricultura sustentável e a biotecnologia agrícola.

2.4.3 Solubilização de Fósforo

O ciclo do fósforo é chamado de "ciclo sedimentar" porque ocorre apenas entre a água, o solo e a atmosfera (Reinhard et al., 2017). Se caracteriza por ser altamente reativo, formando compostos combinados com outros elementos, resultando em fosfatos na natureza (Dey et al., 2021). Os compostos de fosfato presentes no solo podem ser agrupados em três

categorias (i) fosfato inorgânico insolúvel (Pi); (ii) ortofosfato solúvel (fosfato biodisponível); e (iii) fosfato orgânico insolúvel (Po) (Shen et al., 2011; Dey et al., 2021). A forma de ortofosfato é a única que as plantas conseguem absorver (Lambers et al., 2022). No entanto, ao interagir com componentes inorgânicos e orgânicos do solo, torna-se menos móvel, menos capaz de ser absorvido pelas plantas.

A dinâmica de transformação do fósforo ocorre de um reservatório de fósforo para outro, impulsionada por processos naturais, tanto físicos quanto químicos, que incluem intemperismo, dessorção-adsorção, dissolução-precipitação e imobilização (Reinhard et al., 2017; Dey et al., 2021). Além disso, a atividade microbiana, como a dissolução de Pi insolúvel, contribui para esse processo (Billah et al., 2019).

Nesse contexto, a utilização de microrganismos benéficos à agricultura, que desempenham um papel importante na ciclagem de fósforo, surge como uma estratégia biotecnológica promissora com destaque global nas últimas décadas (Khan et al., 2009; Billah et al., 2019). Bactérias capazes de solubilizar fosfato realizam uma série de processos para converter fontes de fósforo indisponíveis em formas biodisponíveis no solo. Um dos mecanismos de mobilização é a solubilização de fosfato inorgânico (Pi), que ocorre por meio de processos como acidificação, protonação, quelação e produção de EPS (Khan et al., 2016; Prabhu, Borkar & Garg, 2019).

A acidificação está relacionada à produção de ácidos orgânicos, que reduzem o pH do meio, competem por sítios de adsorção de fósforo e formam íons complexados solúveis ligados a metais insolúveis, resultando na liberação de fósforo solúvel (Kaur, Selvakumar & Ganeshamurthy, 2016). A protonação envolve a excreção de prótons durante a assimilação de NH_4^+ e a produção de H_2CO_3 pela respiração, resultando na solubilização de fosfato sem a produção de ácido orgânico (Setiawati et al., 2022). Já a quelação ocorre pela combinação de ácidos orgânicos e sideróforos que se ligam a metais catiônicos do fosfato insolúvel, resultando na formação de fosfato biodisponível e complexos metal-quelados (Parker, Reichman & Crowley, 2005; Sharma et al., 2013).

A mineralização do fosfato orgânico desempenha um papel importante no processo de solubilização do fósforo inorgânico pelas bactérias solubilizadoras de fosfato tolerantes ao sal. A atividade de fosfatase, uma enzima presente nessas bactérias, desempenha um papel crucial nesse processo (Malboobi et al., 2009; Bai et al., 2020). A fosfatase atua na quebra das ligações de éster entre o grupo fosfato e o resíduo orgânico dos fosfatos orgânicos, liberando assim o fósforo para a célula (Elhaisoufi et al., 2022). Essa liberação de ortofosfato a partir

do complexo orgânico fosfatado é relatada em várias bactérias solubilizadoras de fosfato tolerantes ao sal que produzem a enzima fosfatase.

2.4.4 Solubilização de óxido de Zinco

O zinco (Zn) desempenha um papel crucial no desenvolvimento das culturas, sendo fundamental para a síntese de proteínas e enzimas nas plantas, como por exemplo, integrante do processo de síntese do triptofano, um precursor do AIA, um importante hormônio vegetal (Alloway et al., 2008; Weng et al., 2015).

Estima-se que 50% das terras agrícolas dedicadas à produção de grãos sejam possivelmente deficientes de Zn em todo o mundo (Nitu, Rajinder & Sukhminderji, 2020). O Zn não está prontamente disponível para as plantas devido principalmente à sua forma insolúvel na maioria dos casos. A deficiência de Zn é prevalente em solos calcários, alcalinos, alagados e arenosos devido à conversão do Zn em sua forma insolúvel (Alloway et al., 2008; Hafeez et al., 2013). A biodisponibilidade do Zn nas plantas pode ser melhorada por meio da aplicação de micronutrientes, como sulfato de zinco (ZnSO_4), como fertilizante químico (Bhatt, Houssain & Sharma, 2020). No entanto, apenas uma pequena proporção, entre 1% a 5%, do Zn aplicado é realmente absorvida pelas plantas, enquanto o restante, cerca de 95%, é convertido novamente em formas insolúveis, como hidróxido de zinco (Zn(OH)_2) em solos com pH elevado, carbonato de zinco (ZnCO_3) em solos alcalinos ricos em cálcio, fosfato de zinco ($\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$) em solos alcalinos neutros enriquecidos com fosfato e sulfeto de zinco (ZnS) em solos com condições reduzidas (Reddy, 2014).

Assim como para a biodisponibilidade de fósforo no solo, os microrganismos promotores do crescimento das plantas (PGPR) capazes de solubilizar o Zn são uma alternativa promissora para enfrentar o desafio da deficiência de Zn nas culturas agrícolas (Kamran et al., 2017). Esses microrganismos utilizam diversos mecanismos para solubilizar os nutrientes no solo, incluindo a acidificação por meio da produção de ácidos orgânicos, reações de troca, a síntese de moléculas quelantes de metais conhecidas como sideróforos ou ligantes quelados, e o envolvimento em um sistema de oxidação-redução (Sing et al., 2020). O gluconato ou ácido glucônico e seus derivados, como o ácido 2-ceto-glucônico e o ácido 5-ceto-glucônico, juntamente com uma variedade de outros ácidos orgânicos produzidos pelos PGPR, são os mecanismos prováveis pelos quais o Zn são mobilizados (Saravan et al., 2007; Kumar et al., 2019). Esses microrganismos podem desempenhar um papel crucial na melhoria da disponibilidade de Zn para as plantas, ajudando a superar os desafios associados à sua deficiência no solo.

2.5 *Blutaparon portulacoides* (A. Saint-Hil.) Mears

Segundo Assumpção e Nascimento (2000), a família Amaranthaceae é uma das famílias vegetais predominantes na Formação Praial Graminóide (FPG), uma classificação fitofisionômica atribuída pelos autores. Essa formação abrange a zona localizada desde a linha de maré alta, até cerca de 250 metros de distância do mar, das restingas do Norte Fluminense. É uma família de distribuição tropical e subtropical, composta por 65 gêneros e cerca de 1.000 espécies, sendo que no Brasil, ocorrem 15 gêneros e cerca de 100 espécies. O gênero *Blutaparon* Raf. possui distribuição ao longo das costas da América Tropical e África e é composto por quatro espécies. No território brasileiro, a espécie mais comum do gênero é *Blutaparon portulacoides* (A. Saint-Hil.) Mears, ocorrendo amplamente no litoral da região Sul à Nordeste do país (Siqueira, 2001; Agudelo, 2008).

Considerada uma das espécies mais comuns encontradas nas restingas do Norte Fluminense, a espécie *B. portulacoides*, é conhecida popularmente como “capotiraguá”, “pirrixu” e “brede-de-praia” (Assumpção & Nascimento, 2000; Siqueira, 2002; Agudelo, 2008). A espécie ocorre nos biomas do Cerrado e Mata Atlântica (Marchioretto et al., 2012), em ambientes xéricos, dunas, sobre terras argilosas e zonas perturbadas, sobre solos rochosos, secos, salinos e arenosos (Agudelo, 2008). Siqueira (2002) indica sua ocorrência frequente nas áreas ante dunas das restingas do litoral brasileiro, sendo considerada uma espécie pioneira da área de transição entre o ambiente aquático e o terrestre.

Sendo assim, a espécie está sujeita aos efeitos de marés altas e as concentrações de sal no ambiente, aumentando e influenciando na germinação de sementes da espécie (Cordazzo, 2007). Consequentemente, possui mecanismos de adaptação ao ambiente xérico, acumulando água e sal nos ramos, folhas e caules, suporta as ondas de ressacas, oscilações de temperatura, alta intensidade luminosa e ação dos ventos (Siqueira, 2021). Além disso, mantém suas subpopulações através de prolongamento de seus estolões, já que apenas uma parte das sementes consegue viabilizar seu crescimento em um ambiente tão desfavorável (Cordazzo, 2007).

A adaptação inclui características como suculência foliar, cutícula cerosa espessa e pequena superfície foliar que regulam a taxa de evapotranspiração (Boeger & Gluzezak, 2006). Outros fatores como as glândulas de sal e a baixa densidade estomática das folhas também são responsáveis pela sobrevivência da planta em ambientes de dunas e incipientes (Seeliger et al., 1992). Destaca-se que ainda que a espécie possua uma via fotossintética do

tipo C4, que atua como mecanismo de compensação diante da baixa disponibilidade hídrica, do estresse salino e dos altos níveis de radiação sobre a planta (Arruda et al., 2006).

Ainda sobre a espécie, pesquisas têm sido conduzidas para investigar a população microbiana associada às raízes e ao solo rizosférico da espécie, com o objetivo de explorar a diversidade dessas populações, que podem representar uma fonte potencial para a descoberta de novas cepas e compostos bioativos (Barbosa et al., 2006; Vaisman et al., 2018; Pinilla, 2016). Estudos sobre prospecção de bactérias promotoras de crescimento através do isolamento de bactérias associadas à rizosfera da espécie identificaram uma nova cepa M9 pertencente ao gênero *Hallobacillus*, para qual o nome *Hallobaciillus blutaparonensis sp. nov.* foi proposto (Barbosa et al., 2006). Segundo Santos et al. (2021), a bactéria possui características biotecnológicas promissoras como produtora de peptídeos extracelulares, com possíveis aplicações industriais, como em formulações de detergentes.

Entretanto, estudos sobre a prospecção de bactérias promotoras do crescimento e tolerantes a estresses ainda estão sendo realizados, uma vez que a presença desses microrganismos desempenha um papel fundamental na adaptação das plantas a ambientes salinos. Bactérias tolerantes ao sal, como aquelas encontradas na rizosfera e em interação com *B. portulacoides*, podem ter a capacidade de mitigar os efeitos negativos do estresse salino nas plantas, promovendo o equilíbrio osmótico, melhorando a absorção de nutrientes e aumentando a tolerância ao estresse. Portanto, compreender a diversidade e a função dessas bactérias é essencial para o desenvolvimento de estratégias de manejo sustentável em ambientes salinos e para a conservação desses ecossistemas vulneráveis.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Prospectar bactérias associadas à *Blutaparon portulacoides* (A. Saint-Hil.) Mears com capacidade de promover o crescimento vegetal na presença de NaCl.

3.2 Objetivos Específicos

A: Isolar bactérias associadas às folhas, estolões e raízes de *B. portulacoides*, demonstrando resistência a diferentes níveis de salinidade;

B: Identificar os isolados por meio de análise filogenética do DNA ribossomal 16S;

C: Avaliar as características bioquímicas de promoção do crescimento vegetal, como a Fixação Biológica de Nitrogênio, Solubilização de Fosfato de Cálcio, Produção de Compostos Indólicos e Solubilização de Óxido de Zinco para os isolados obtidos, na presença e ausência de NaCl;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da Área de Estudo

O ambiente selecionado para a coleta foi a Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Caruara – RPPN Fazenda Caruara, localizada no município de São João da Barra – RJ, Brasil ($21^{\circ} 79' S$ e $41^{\circ} 04' W$) (Figura 1).

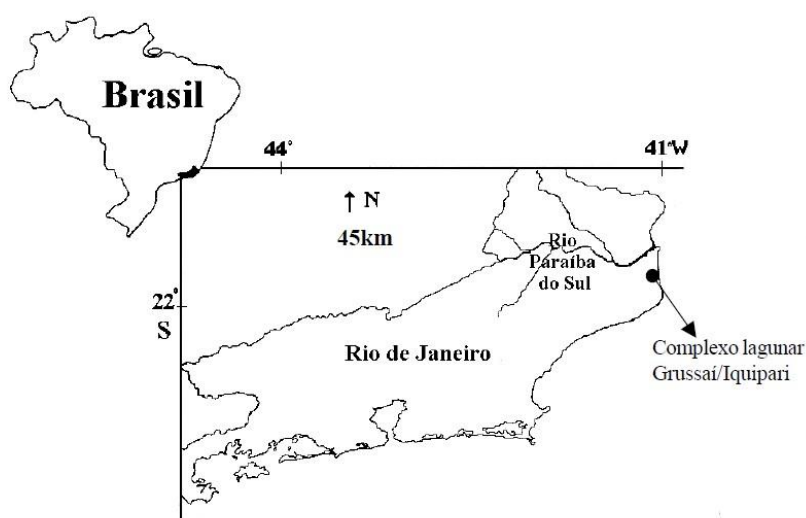


Figura 1: Mapa da localização do complexo lagunar Grussaí/Iquipari. Fonte: Assumpção & Nascimento, 2000.

O clima na região é caracterizado por ser quente e seco, com uma média anual de precipitação inferior a 1.000 mm, sendo a água disponibilizada em pulsos de precipitação, principalmente durante o verão (Rosado & Matos, 2007). A temperatura média anual é de cerca de $33^{\circ} C$, acompanhada por um alto índice de irradiância média de aproximadamente $1.300 \mu M m^{-2} s^{-1}$, e uma baixa umidade relativa do ar. Essas condições ambientais resultam em um elevado Déficit de Pressão de Vapor (DPV) de cerca de 2,2 KPa (Pireda et al., 2019; Grossiord et al., 2020).

A cobertura vegetal da área inclui Formação Praial-Graminóide (FPG), Formação Praial com Moitas (FPM), Formação de Clusia (FC), Brejo Herbáceo (BH) e Formação Mata de Restinga (FMR), conforme ilustrado na Figura 2 (Assumpção & Nascimento, 2000).

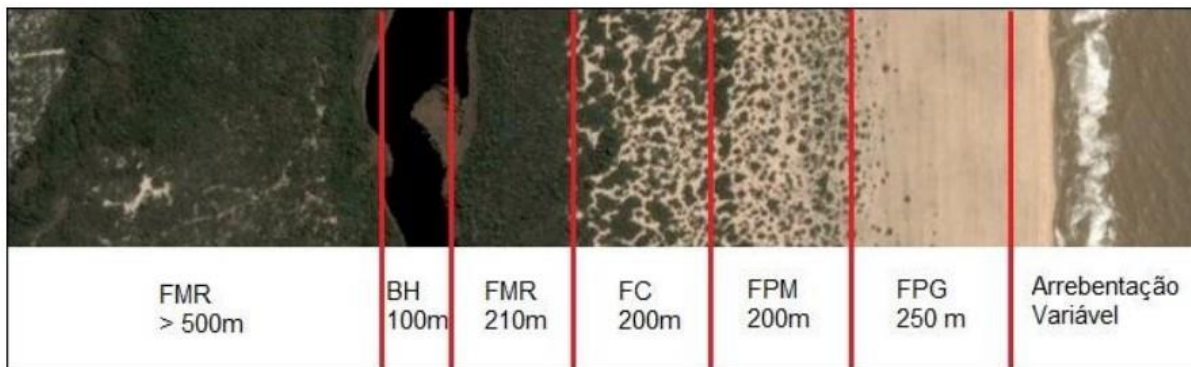


Figura 2: Fisionomia da restinga de Grussaí-Iquipari, São João da Barra, RJ. Fonte: SEA e IEF/ RJ, 2008

Na região das Restingas Norte-Fluminense, a espécie *B. portulacoides* está presente na Formação Praial-Graminóide (FPG), conforme classificado por Assumpção e Nascimento (2000). Esta formação, caracterizada por espécies halófilas e psamófilas-reptantes, abrange a faixa mais próxima do mar, estendendo-se da linha de maré alta até 250 metros da costa (Figura 3). Devido a essa proximidade, as plantas enfrentam condições extremas de luminosidade, salinidade, temperatura e estresse hídrico, conforme observado por Assumpção & Nascimento (2000) e Crawford (2008).

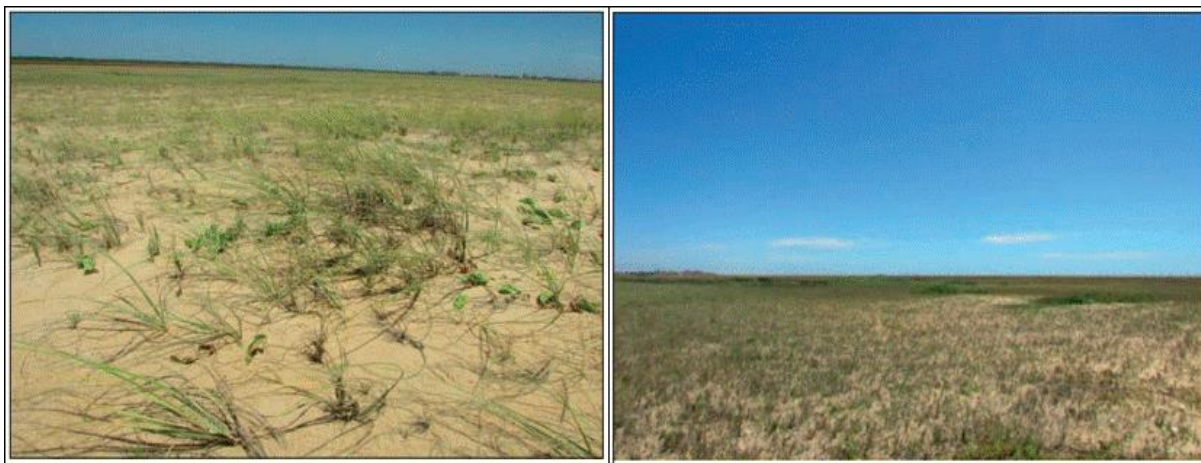


Figura 3: Vegetação reptante da Formação Praial-Graminóide na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara. Fonte: IPF 2016.

4.2 Coleta de Plantas e de Solos

Foram coletados cinco indivíduos da espécie *B. portulacoides*, no mês de janeiro, no período matutino, respeitando o limite de 100 metros de distância entre cada coleta, considerando as dificuldades associadas à identificação de indivíduos distintos devido a propagação por estolões subterrâneos. As amostras foram devidamente identificadas e

acondicionadas em sacos plásticos e levadas para o Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

O solo foi coletado com uma pá a uma profundidade de 20 cm cortando as raízes laterais dos indivíduos que prendem a planta ao solo, formando uma amostra circular. Posteriormente, as amostras foram devidamente armazenadas em sacos plásticos e identificadas. Para a realização da caracterização físico-química, as amostras foram encaminhadas para a FUNDENOR em Campos dos Goytacazes e a média e o desvio padrão foram calculadas.

Tabela 1: Análise de Propriedades Física do Solo em cinco pontos de coleta da Formação Praial Graminóide (FPF) na Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Caruara – RPPN Fazenda Caruara

	pH	K	Ca	Mg	Al	H.Al	Na	CTC	SB	V	m	ISNa	Fe	Cu	Zn	Mn	B	SSO ₄	P
	H ₂ O	mmolc/dm ³						mmolc/m ³		%			mg/dm ³						
Média	9,12	0,28	1,6	1,36	0	0	1,84	4,98	4,97	1,00	0,00	34,80	120,55	0,22	0,48	18,59	0,15	13,20	6,60
D.P.	0,08	0,08	0,3	0,2	0	0	0,2	0,2	0,23	0	0	3,56	14,47	0,04	0,02	0,51	0,02	0,83	1,34

N/pH em água, KCl e CaCl Relação 1:2,5; P - Na - K - Fe - Zn - Mn - Cu - Extrator Melhlich 1; Ca - Mg - Al - Extrator: KCl - 1 mol/L; H + Al - Extrator Acetato de Cálcio mol/L - pH 7,0; B - Extrator quente; S - Extrator - Fosfato monocálcico; SB = Soma de Bases e Trocáveis; CTC - Capacidade de Trocas Catiônicas a pH 7,0; V = Índice de Saturação de Bases; m = Índice de Saturação de Alumínio; ISNa – Índice de Saturação de Sódio; Mat. Org. = (MO) = C.Org x 1,724 - Walkley-Black. Fonte: Laboratório de Análise de Solos da FUNDENOR, Campos dos Goytacazes, RJ. A análise de média e o desvio padrão (D.P.) foram calculadas pela autora.

Tabela 2: Análise de Propriedades Física do Solo em cinco pontos de coleta da Formação Praial Graminóide (FPF) na Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Caruara – RPPN Fazenda Caruara

	Areia	Argila	Silte
Média	996	3	1
Desvio Padrão	0,70	0,70	0

Fonte: Laboratório de Análise de Solos da FUNDENOR, Campos dos Goytacazes, RJ. A análise de média e o desvio padrão (D.P.) foram calculadas pela autora.

4.3 Obtenção dos Isolados

Para a obtenção dos isolados microbianos, foi pesado 1 g de raízes, folhas e colmo de *B. portulacoides*. Em seguida, procedeu-se à diluição seriada de 10^{-1} a 10^{-7} , tendo-se transferido sucessivamente 1 mL da suspensão, de cada diluição, para tubos com 9 mL de solução salina (0,85% de NaCl). O plaqueamento foi realizado em meio sólido NB (caldo nutriente), com o auxílio de uma alça de Drigalski, onde diferentes concentrações de sal (0%, 5% e 20% de NaCl) foram incorporadas ao meio NB para triagem de bactérias tolerantes a salinidade, além de serem cultivados também em meio de cultura semi-sólido JNFb para obtenção de bactérias diazotróficas. O meio de cultura semi-sólido JNFb foi preparado com a seguinte composição por litro: 5 g de ácido málico, 6 g de K_2HPO_4 , 1,8 g de KH_2PO_4 , 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 g de NaCl, 0,02 g de $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 4 mL de FeEDTA (solução 1,64%), 2 mL de azul de bromotimol (solução 0,5% em 0,2 N de KOH), 2 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, e 1 mL de vitamina para meio de cultura. O pH foi ajustado para 5,8 com KOH e foram adicionados 1,8 g de ágar (Döbereiner et al., 1995). Após a inoculação, os frascos e as placas foram incubados a 30 °C por um período de 7 dias. A presença de bactérias diazotróficas foi demonstrada pela observação da formação de uma película esbranquiçada aerotóxica ((Döbereiner et al., 1995).

4.4 Extração de DNA, amplificação do gene 16S rDNA por qPCR e Identificação das bactérias

Para extração do DNA e identificação do gene 16S, os isolados bacterianos foram cultivados em meio NB e NB + 5% NaCl em agitador orbital (180 rpm, 30 °C) overnight. O DNA genômico foi isolado utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. A concentração e a pureza do DNA extraído foi estimada utilizando o espectrofotômetro NanoDrop™ 2000/2000c (Thermo Fisher Scientific). Amostras com proporções 260/280 de 1,8-2,0 foram usadas para os experimentos adicionais. A integridade do DNA foi avaliada em eletroforese em gel de agarose a 1% corado com 0,5 µg/ml de brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta (UV). Somente amostras com DNA íntegro foram utilizadas. A sequência do gene 16S rRNA foi amplificada por PCR convencional usando os iniciadores (primers) universais bacterianos 27F (5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e 1492R (5' GGTTACCTTGTTACGACTT-3') (Somerville et al., 2020). A reação de amplificação foi realizada em um volume final de 25 µL contendo 40 ng de DNA molde, 2,5 µL de tampão 10x, 1,25 µL de $MgCl_2$ (50 mM), 0,5 µL

de dNTP (10 mM), 1 µl de cada primer, 0,2 µL da Enzima Taq polimerase (5 Unidades) e 17,55 µl de água ultrapura. A amplificação foi realizada com um passo inicial de desnaturação a 94 °C por 3 min, 32 ciclos de 94 °C por 60s, 60 °C por 90s e 72 °C por 60s, e extensão final a 72 °C por 10 min em termociclador SimpliAmp™ Thermal Cyclers 60-Well (Applied Biosystems™). O resultado obtido na reação de PCR foi analisado em um gel de agarose (1%) corado com 0,5 µg/ml de brometo de etídio. O produto amplificado foi enviado à empresa GoGenetics para sequenciamento do gene 16S na plataforma Illumina MiSeq.

As sequências genéticas obtidas foram editadas e aprimoradas no software Chromas (<https://technelysium.com.au/wp/chromas/>), e as fitas consensos foram geradas pelo software Bioedit Sequence Alignment Editor (<https://bioedit.software.informer.com/>). Posteriormente, as sequências foram comparadas no banco de dados do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) com sequências conhecidas, utilizando uma pesquisa de similaridade via Blast (Altschul et al., 1990).

4.5 Ensaio de tolerância à salinidade

Uma colônia de cada isolado foi retirada com a alça de platina e crescidos em meio NB por 24 h, após esse período, uma alíquota de 20 µL foi transferida para tubos de ensaio com 5 mL de NB + 5%, 10%, 15%, 20% de NaCl. O crescimento foi observado em um período de 48 h. O crescimento bacteriano foi medido através dos valores de absorbância em espectrofotômetro Hidex Chameleon Multilabel Detection Platform a 630 nm.

4.6 Avaliação da fixação de nitrogênio em meio JNFb com e sem adição de NaCl

Após sete dias de incubação no meio JNFb, a avaliação da fixação de nitrogênio foi realizada observando a formação de aerotóxica película. Os microrganismos desenvolvidos nesse meio foram então transferidos para placas de Petri contendo meio sólido NB, além de meio sólido NB adicionado de 5% de NaCl. (Döbereiner et al., 1995). Todos os isolados bacterianos obtidos, incluindo aqueles provenientes das placas com 5% e 20% (p/v) de NaCl, foram purificados e subcultivados pelo menos cinco vezes em meio JNFb semi-sólido e meio JNFb semi-sólido com a mesma composição, acrescido de 5% de NaCl, como critério para a confirmação de bactérias diazotróficas (Döbereiner et al., 1995).



Figura 4: Demonstração do meio semi-sólido JNFb, onde a estirpe fixadora de nitrogênio foi cultivada. A película esbranquiçada que se forma na superfície do meio destaca sua habilidade de fixação biológica de nitrogênio.

4.7 Avaliação da solubilização de fosfato de cálcio em meio sólido com e sem adição de NaCl

Para avaliar a capacidade de solubilização de fosfato de cálcio, os isolados foram previamente cultivados em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio líquido NB por 24 horas, em um shaker rotativo a 30 °C e 180 rpm. Em seguida, alíquotas de 20 µL das soluções bacterianas foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura sólido para solubilização de fosfato de cálcio (Goldstein, 1986). Esse meio consistia em 10 g de glicose, 5 g de cloreto de amônio (NH₄Cl), 1 g de cloreto de sódio (NaCl), 1 g de sulfato de magnésio hepta-hidratado (MgSO₄·7H₂O), suplementado com 1,0 g de fosfato de cálcio [Ca₃(PO₄)₂], e 15 g de ágar em 1000 mL de água destilada, com o pH ajustado para 7,0 (Goldsten, 1986). O teste foi realizado tanto com adição de 5% de NaCl quanto sem NaCl no meio. Cada isolado foi testado em cinco repetições para cada condição.

As placas inoculadas foram incubadas a 30 °C em estufa por sete dias. A confirmação de bactérias solubilizadoras presente entre os isolados foi dada através da presença de um halo translúcido em meio sólido. E a razão do diâmetro do halo formado ao redor das colônias bacterianas e o diâmetro da colônia bacteriana ($IS = \text{diâmetro do halo (mm)} / \text{diâmetro da colônia (mm)}$) caracterizou o índice de solubilização de fosfato, sendo este classificado em baixo ($IS < 2$), médio ($2 \leq IS \leq 4$) e alto ($IS > 4$) (Berraquero et al., 1976).

4.8 Avaliação da produção de compostos indólicos com e sem adição de NaCl

Os isolados bacterianos foram pré-cultivados em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio líquido NB (Rodrigues Neto et al., 1986), enquanto o isolado CaRJ 75 foi cultivado em meio NB com adição de 5% de NaCl, por um período de 24 horas, a uma temperatura de 30 °C e agitação a 170 rpm.

Posteriormente, alíquotas de 25 µL dos isolados foram transferidas para tubos de ensaio contendo 5 mL de meio líquido DYGS. Os tubos foram divididos em quatro grupos: um com triptofano, outro sem triptofano, um com triptofano e 5% de NaCl, e outro sem triptofano e com 5% de NaCl (com 100 µL de uma solução estoque de triptofano a 100 mg L⁻¹ adicionada). Os tubos foram então incubados em um shaker rotativo, protegidos da luz, por 48 horas, a 30°C e 180 rpm.

A avaliação da produção de compostos indólicos, seguindo o método descrito por Sarwar & Kremer (1995), foi realizada após centrifugação dos isolados a 5.000 rpm por 5 minutos. Em seguida, uma alíquota de 150 µL do sobrenadante foi transferida para uma microplaca de 96 poços, adicionando-se 100 µL do reagente de Salkowski (uma solução contendo 1 mL de FeCl₃.6H₂O a 0,5 mol L⁻¹ em 50 mL de ácido perclórico HClO₄ a 35% em água), com um período de incubação de 30 minutos no escuro. Inicialmente, construímos a curva de calibração utilizando diferentes concentrações conhecidas de ácido indol-3-acético (AIA) comercial Sigma® em concentrações crescentes, em meio líquido composto por água e o reagente de Salkowski. Após a obtenção dos resultados, identificamos a interferência do meio DYGS (Rodrigues Neto et al., 1986) nos resultados da curva de calibração. Para corrigir essa interferência, ajustamos os valores da curva de calibração utilizando o meio DYGS como controle negativo.

Após essa correção, a metodologia seguiu conforme descrito anteriormente, com a realização da reação entre os compostos indólicos presentes no sobrenadante e o reagente de Salkowski, seguida pela leitura da absorbância a 492 nm em um espectrofotômetro de microplacas de poliestireno de 96 poços.

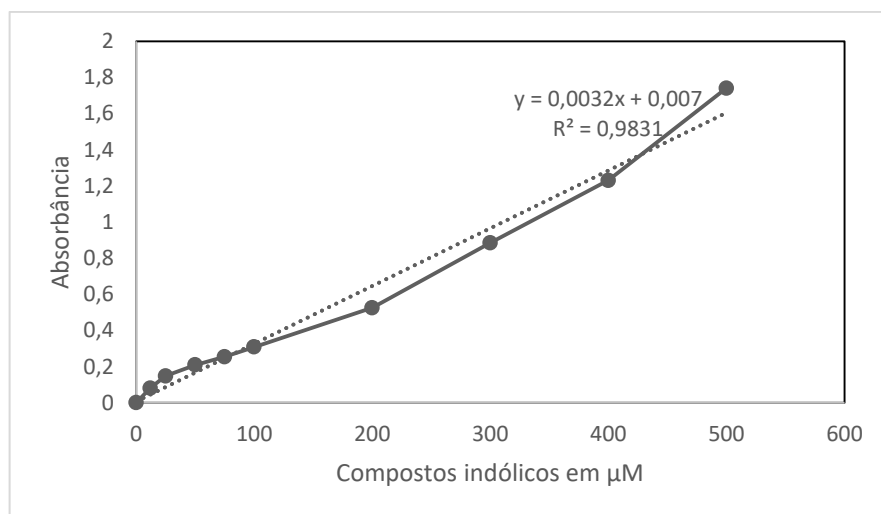


Figura 5: Curva padrão utilizada para determinação da concentração de AIA (µM).

4.9 Solubilização de óxido de zinco

Para avaliar a capacidade de solubilização de zinco, os isolados foram previamente cultivados em tubos de ensaio contendo meio líquido NB por 24 horas, a 30 °C e 180 rpm. Após esse período, alíquotas de 20 µL das suspensões bacterianas foram dispostas em placas de Petri contendo meio de cultura sólido para solubilização de zinco (Saravanan et al., 2003), cuja composição incluiu: 10 g de glicose, 1 g de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄), 0,2 g de cloreto de potássio (KCl), 0,1 g de fosfato de dibásico de potássio (K₂HPO₄), 0,2 g de sulfato de magnésio hepta-hidratado (MgSO₄.7H₂O), 1,0 g de óxido de zinco (ZnO) e 15 g de ágar, diluídos em 1000 mL de água destilada, com ajuste de pH para 7,0. O teste foi conduzido em duas condições distintas: uma sem adição de NaCl e outra com suplementação de 5% de NaCl ao meio de cultura. As placas foram então incubadas em estufa a 30 °C por sete dias. A confirmação de bactérias solubilizadoras presente entre os isolados foi determinada pela presença de um halo translúcido no meio sólido.

A razão do diâmetro do halo formado ao redor das colônias bacterianas e o diâmetro da colônia bacteriana ($IS = \text{diâmetro do halo (mm)} / \text{diâmetro da colônia (mm)}$) caracterizou o índice de solubilização de zinco, classificado como baixo ($IS < 2$), médio ($2 \leq IS \leq 4$) e alto ($IS > 4$) (Berraquero et al., 1976).

4.10 Avaliação da tolerância bacteriana do isolado CaRJ75 ao NaCl em concentrações crescentes de NaCl por meio da curva de crescimento

O isolado foi selecionado por sua exclusividade, sendo o único a ser isolado da placa com 20% (p/v) de NaCl. O cultivo do pré-inóculo foi realizado em tubos de ensaio contendo 5 mL de NB com adição de 5% (p/v) de NaCl, devido ao seu desempenho de crescimento mais acentuado nesse meio em comparação com o meio NB sem NaCl, sob agitação em shaker a 30 °C e 170 rpm por um período de 24 horas. Após esse período, uma alíquota de 20 µL foi transferida para tubos de ensaio contendo 5 mL de meio NB, além de meios NB com adição de 5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 30% de NaCl, todos em triplicata. Posteriormente, alíquotas de 200 µL foram distribuídas em placas de 96 poços, com leituras da absorbância realizadas em um espectrofotômetro Hidex Chameleon Multilabel Detection Platform a 630 nm em intervalos de avaliação a cada 0, 4 e 8 horas, até completar 72 horas de incubação.

4.11 Análise da solubilização de fosfato de cálcio pelo isolado CaRJ75 em meio sólido sob diferentes concentrações de NaCl

O isolado foi previamente cultivado em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio líquido NB com adição de 5% de NaCl, conforme identificado como ideal pelas análises anteriores por 24 horas a 30°C e 180 rpm. Após esse período, alíquotas de 20 µL das soluções bacterianas foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura sólido para solubilização de fosfato de cálcio, seguindo a metodologia descrita por Goldstein (1986). Além disso, foi realizada uma adaptação da metodologia para incluir concentrações crescentes de NaCl (0,1%, 5%, 10%, 15% e 20%), refletindo as condições encontradas anteriormente nos dados fornecidos pela curva de resistência à salinidade. As placas foram incubadas a 30 °C em estufa por sete dias. A presença de bactérias solubilizadoras foi confirmada pela formação de um halo translúcido ao redor das colônias bacterianas no meio sólido após o período de 7 dias. O índice de solubilização de fosfato (IS) foi calculado como a razão entre o diâmetro do halo formado e o diâmetro da colônia bacteriana, seguindo a classificação proposta por Berraquero et al. (1976).

4.12 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas através do software R e RStudio (R Core Team 2022). Inicialmente, foram realizadas análises para identificar a natureza dos dados. A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro-Wilk ($p > 0.05$) usando o argumento “*shapiro.test*” nativo do R (“*stats*”). Em seguida foi verificada a homogeneidade de variância através do teste de Levene ($p > 0.05$) usando o argumento “*leveneTest*” do pacote “*car*” (Fox & Weisberg, 2019). Por fim, a presença de outliers alavancadores foi verificada por grupos onde os tratamentos (+NaCl e -NaCl) foram estabelecidos como fator de agrupamento através do argumento “*groupy_by*” do pacote “*dplyr*” (Wickham et al., 2023). Dessa forma foi possível identificar os outliers alavancadores através do argumento “*identify_outliers*” do pacote “*rstatix*” (Kassambara, 2023). As variáveis não-paramétricas foram transformadas através da função logarítmica de base 10 (Log10) para atenderem os pressupostos para serem submetidos a análise de variância.

As diferenças entre as variâncias foram realizadas através da Anova One-Way ($p < 0.05$). Inicialmente foi construído um modelo através do argumento “*aov*” nativo do R (p.ex.: *modelo <- aov(bactéria ~ tratamento, dataset)*). Em seguida o modelo foi submetido ao teste Post-hoc de Tukey através do argumento “*PostHocTest*” do pacote “*DescTools*” (Signorell, 2023) (p.ex.: *modelo, method = “hsd”*).

Os gráficos de barras foram construídos através do argumento `“geom_bar”`, os gráficos de *ridges* foram construídos através do argumento `“geom_density_ridges_gradient”` e gráfico de linha através do argumento `“geom_line”` todos do pacote `“ggplot2”` (Wickham, 2016). Para a construção do *heatmap* foi montada uma matriz com 11 colunas e 4 linhas através dos argumentos `“colnames”` e `“rownames”` nativo do R. O *heatmap* foi feito utilizando o argumento `“heatmap”` nativo do R.

Para análise de similaridade, foi construída uma matriz de dados binários. Os dados foram submetidos ao coeficiente de Jaccard, e o agrupamento foi realizado usando o método de agrupamento de pares não ponderados com média aritmética (UPGMA) em conjunto com mapa de calor para visualização da variação dos valores calculados.

5 RESULTADOS

5.1 Isolamento de bactérias associadas à *Blutaparon portulacoides* tolerantes à salinidade

Após o isolamento em meio NB com adição de 5% de NaCl (p/v) e meio JNFb, foram obtidos 62 isolados bacterianos, as quais foram submetidas ao crescimento em meio de cultura suplementado com 5% de NaCl, o qual demonstrou a tolerância a salinidade para 12 isolados, sendo estes selecionados com base em sua capacidade de cultivo para realização dos próximos testes de promoção de crescimento, a tabela 3 demonstra a origem dos isolados.

Tabela 3: Isolados bacterianos associados à *Blutaparon portulacoides*

Meio	Identificação
Placa – NB + NaCl 5%	CaRJ26, CaRJ34, CaRJ45, CaRJ111, CaRJ113
Placa – NB + NaCl 20%	CaRJ75
JNFb	CaRJ81, CaRJ83, CaRJ86, CaRJ90, CaRJ95, CaRJ95, CaRJ97

5.2 Análises preliminares dos consensos unificados

Os isolados então foram identificados molecularmente a fim de determinar suas espécies e caracterizar suas propriedades genéticas e bioquímicas. Após a extração, quantificação e sequenciamento do gene 16S, os isolados obtidos foram submetidos à análise de identificação molecular utilizando o BLAST, com base no banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI). Essa análise revelou a presença de dez gêneros bacterianos associados à *Blutaparon portulacoides* (conforme detalhado na Tabela 4). Todos os isolados foram classificados como pertencentes ao domínio Bacteria, e foram identificados como membros dos filos *Proteobacteria*, *Actinobacteria* e *Firmicutes*. Além disso, observou-se que todas as bactérias isoladas são conhecidas por sua capacidade de tolerar ambientes salinos, sendo classificadas como bactérias halotolerantes.

Tabela 4: Identificação dos isolados halotolerantes baseada no sequenciamento do gene 16S e consulta ao banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Estirpe	T.	Maior similaridade no Blastn	Código NCBI	Identidade da	E-Value
---------	----	------------------------------	-------------	---------------	---------

fragmento (pb)			sequência (%)		
CaRJ26	514	<i>Isoptericola salitolerans</i>	OP420789.1	99,22%	0
CaRJ34	1317	<i>Nitrateductor kimnyeongensis</i>	KY616569.1	99,92%	0
CaRJ45	1371	<i>Aeromicrobium sp.</i>	KX022841.1	99,41%	0
CaRJ75	1350	<i>Salinicola tamaricis</i>	CP023559.1	99,70%	0
CaRJ81	562	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP101325.1	98,94%	0
CaRJ83	1286	<i>Paramesorhizobium deserti</i>	OQ996721.1	99,92%	0
CaRJ86	608	<i>Bacillus altitudinis</i>	OR267380.1	100%	0
CaRJ90	608	<i>Bacillus siamensis</i>	ON564874.1	99,84%	0
CaRJ95	630	<i>Microbacterium sp.</i>	MT367835.1	99,84%	0
CaRJ97	1371	<i>Bacillus velezensis</i>	OR267375.1	100%	0
CaRJ111	1339	<i>Enterobacter hormaechei</i>	MK414992.1	99,93%	0
CaRJ113	1363	<i>Bacillus safensis</i>	QR394252.1	100%	0

5.3 Tolerância à salinidade

Com o objetivo de identificar a tolerância à salinidade em diferentes concentrações, as estirpes bacterianas foram testadas com base em sua resposta à presença de sal. Essa classificação considerou o crescimento observado em diferentes concentrações de NaCl abrangendo 0%, 5%, 10% 15% e 20%, ao longo de um período de 48 horas. De acordo com os resultados obtidos, todas as estirpes demonstraram capacidade de crescimento em meio NB puro e NB com 5% de NaCl. Contudo, observou-se que *I. salitolerans* (CaRJ26) e *N. kimnyeongensis* (CaRJ34) cresceram em até 10% de NaCl, enquanto *S. tamaricis* (CaRJ75) demonstrou crescimento em até 20% conforme ilustrado na Figura 10.

5.4 Fixação Biológica de Nitrogênio

Para avaliar a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), e comparação da fixação sob interferência de salinidade, foi observado que após o período de sete dias houve formação de película aerotóxica, como representado na Figura 3. Dentre os 12 isolados identificados, todos apresentaram resultados positivos para o teste FBN. Entretanto, apenas um isolado, *S.*

tamaricis (CaRJ75), demonstrou capacidade na presença de meio com 5% (p/v) de NaCl (Figura 10).

5.5 Solubilização de Fosfato de Cálcio

Nos testes de solubilização de fosfato de cálcio, dos 12 isolados identificados, seis apresentaram resultados positivos: *P. aeruginosa* (CaRJ81), *P. deserti* (CaRJ83), *B. velezensis* (CaRJ97), *S. tamaricis* (CaRJ75), *E. hormaechei* (CaRJ111) e *B. safensis* (CaRJ113) (Figura 6A). Entretanto, apenas as três últimas demonstraram essa habilidade na presença de NaCl (Figura 6).

Ao avaliarmos o Índice de Solubilização (IS), para os isolados solubilizadores de fosfato de cálcio, constatamos que *S. tamaricis* (CaRJ75) e *P. deserti* (CaRJ83), e *P. aeruginosa* (CaRJ81) apresentaram maior índice de solubilização ≥ 2 na ausência de NaCl, sendo classificadas como médias solubilizadoras de fosfato de cálcio de acordo com o Berraqueiro et al., (1976) (Figura 6C). Na presença de NaCl 5% (p/v), dos três isolados que foram capazes de realizar a solubilização de fosfato de cálcio, *S. tamaricis* (CaRJ75) foi a que apresentou maior capacidade de solubilização, seguida por *B. safensis* (CaRJ113) e *E. hormaechei* (CaRJ111) (Figura 6D).

A fim de verificar a capacidade de cada bactéria em solubilizar fosfato de cálcio na presença e ausência NaCl foram realizadas análises pareadas entre os tratamentos. Dessa maneira foi possível constatar que *S. tamaricis* (CaRJ75) apresentou a melhor capacidade de solubilização de fosfato de cálcio na presença de NaCl, enquanto *E. hormaechei* (CaRJ111) apresentou mais capacidade de solubilização na ausência de NaCl. Já *B. safensis* (CaRJ113) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com e sem NaCl (Figura 6E).

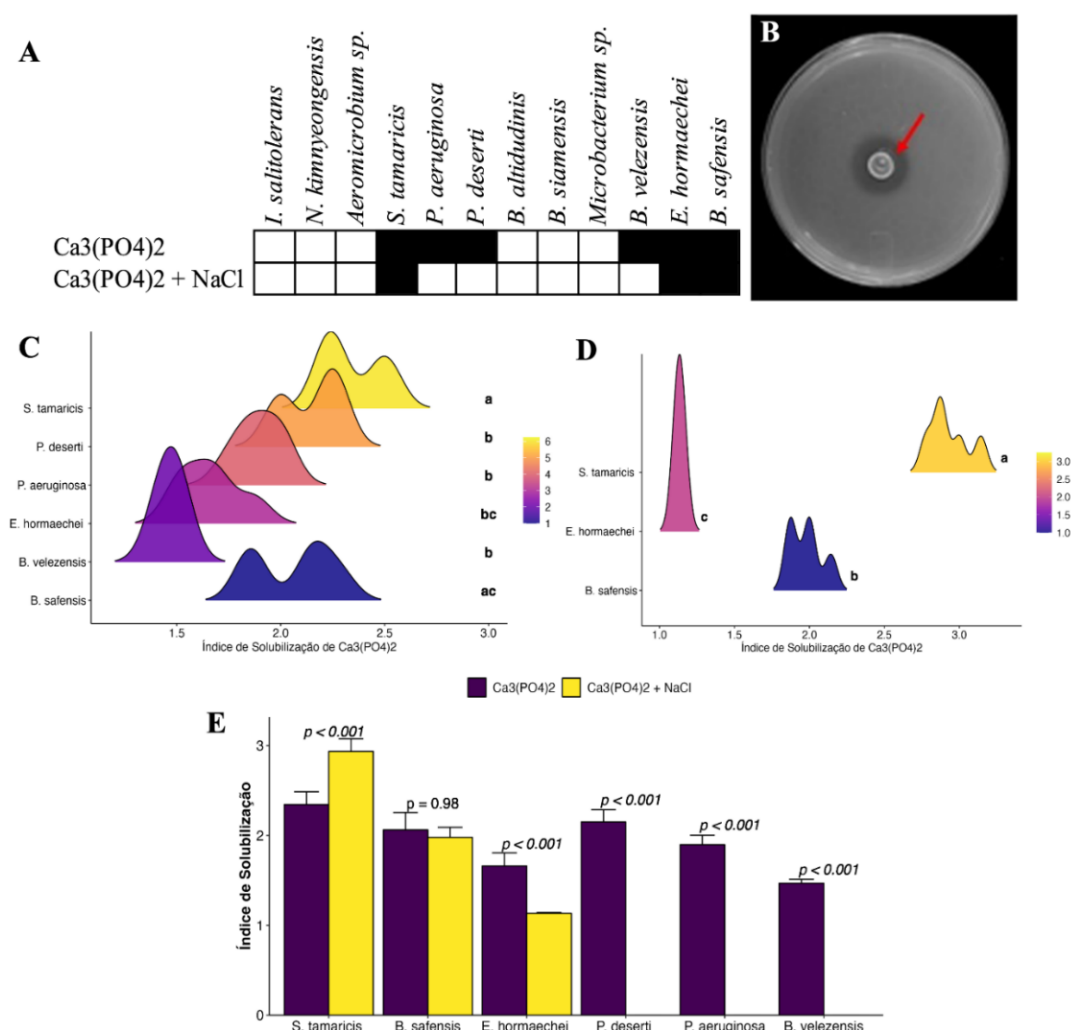


Figura 6: Capacidade de solubilização de fosfato de cálcio dos isolados bacterianos. **A** - Matriz de presença e ausência para o teste de solubilização de Fosfato de Cálcio em meio sólido [Ca₃(PO₄)₂], em meio com e sem adição de 5% de NaCl; **B** - Imagem da placa com meio de Fosfato de Cálcio em meio sólido [Ca₃(PO₄)₂], com o isolado formado o halo de solubilização (seta vermelha); **C** - Índice de Solubilização (IS) dos isolados em meio com Fosfato de Cálcio [Ca₃(PO₄)₂]; **D** - Índice de Solubilização (IS) dos isolados em meio com Fosfato de Cálcio [Ca₃(PO₄)₂] + 5% de NaCl; **E** - Índice de Solubilização (IS) comparando as estirpes na presença e ausência de NaCl. Letras diferentes indicam diferenças significativas (Anova One-way, $p < 0.05$).

5.6 Produção de compostos indólicos triptofano-dependente e triptofano-independente com e sem adição de NaCl

Ao avaliarmos se a salinidade afeta a produção de compostos indólicos e quais dos isolados eram capazes de produzi-los foi observado que os resultados variaram dentro dos isolados e condições analisadas (Figura 7 e 8). No tratamento sem adição de triptofano o 5% (p/v) de NaCl afetou significativamente de forma negativa a produção de compostos indólicos nos isolados *E. hormaechei* (CaRJ111) e *B. siamensis* (CaRJ90), enquanto em *Microbacterium* sp. (CaRJ95) e *B. altitudinis* (CaRJ86) a produção do composto foi maior

maior na presença de NaCl, no outros isolados, a salinidade não teve impacto significativo da produção desses compostos (Figura 7). No ensaio com adição de triptofano, a influência negativa do NaCl na produção dos compostos indólicos foi mantida em *E. hormaechei* (CaRJ111) e *B. siamensis* (CaRJ90), além de ser observada também em *P. aeruginosa* (CaRJ81) e *B. velezensis* (CaRJ97), enquanto para as outras estirpes não houve diferença significativa (Figura 8).

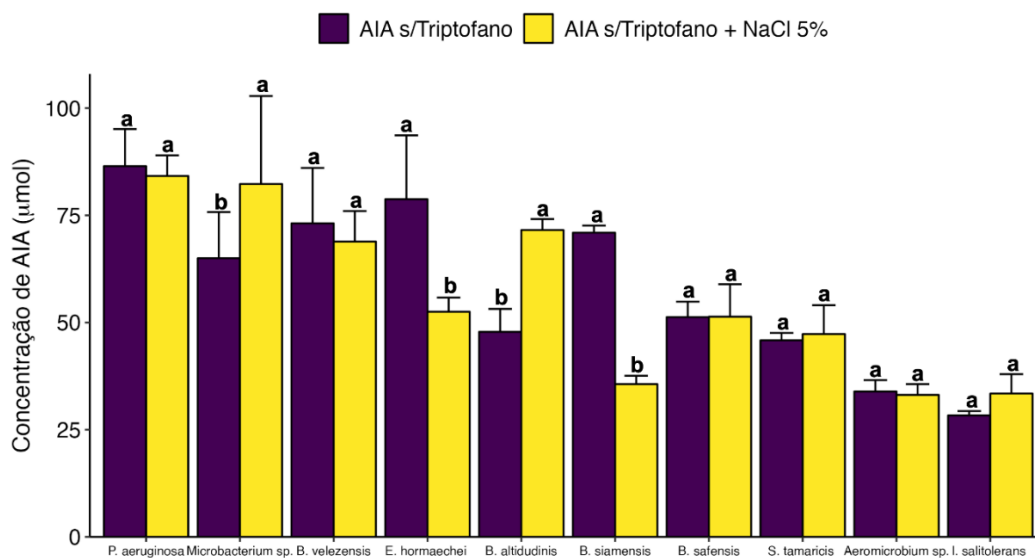


Figura 7: Concentração de (compostos indólicos) ácido indol-3-acético (AIA), produzidos pelos isolados bacterianos em condições de cultivo sem triptofano, adição de NaCl 5% (p/v). As barras representam os valores médios e desvio padrão de concentração de AIA em micromol (μmol) para cada isolado bacteriano analisado. Letras diferentes indicam diferenças significativas (Anova One-way, $p < 0.05$).

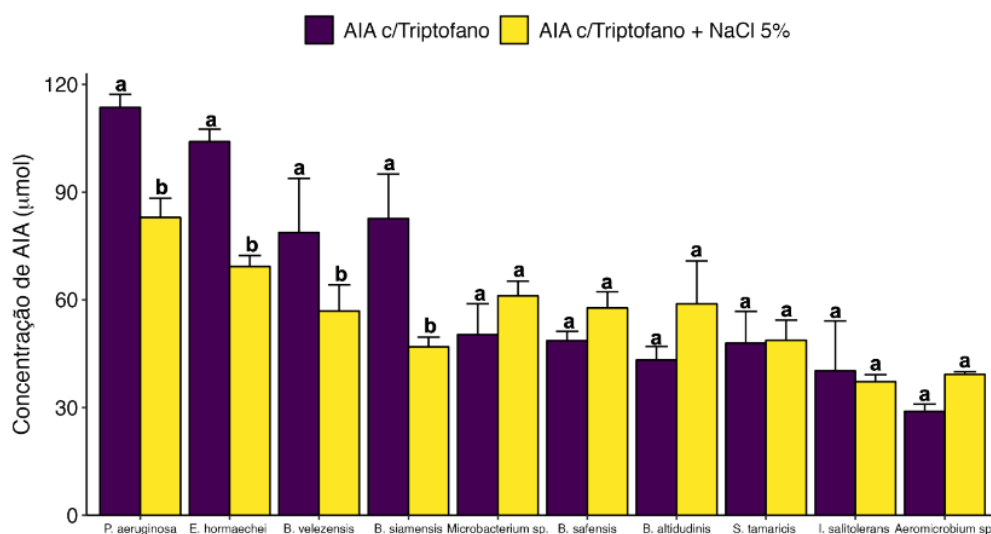


Figura 8: Concentração de (compostos indólicos) ácido indol-3-ácético (AIA), produzido pelas diferentes estirpes bacterianas em condições de cultivo com triptofano, com e sem adição de NaCl 5% (p/v). As barras representam os valores médios e desvio padrão de concentração de AIA em micromol (p/v).

(μmol) para cada isolado bacteriano analisado. Letras diferentes indicam diferenças significativas (Anova One-way, $p < 0.05$).

5.7 Solubilização de Óxido de Zinco

Para solubilização de óxido de zinco, como demonstrado na figura 9, apenas *P. aeruginosa* (CaRJ 81) demonstrou capacidade de solubilização no meio sem adição de NaCl 5% (p/v) e seu Índice de Solubilização foi classificado como baixo ($IS < 2$).

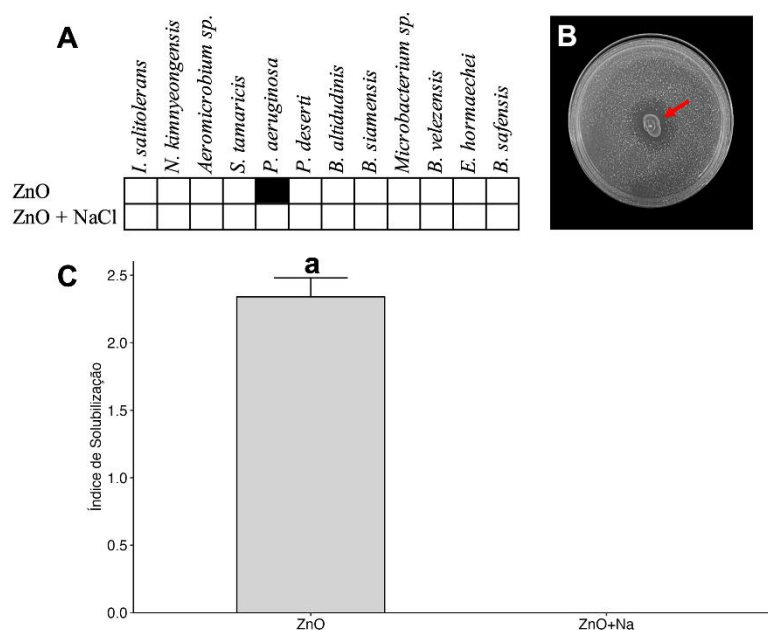


Figura 9: Matriz de presença e ausência pra o teste de solubilização de fosfato de cálcio em meio sólido $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$, em meio com e sem adição de 5% de NaCl; **B** – Imagem da placa com meio de fosfato de cálcio em meio sólido $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$, com o isolado formado o halo de solubilização (seta vermelha); **C** – Índice de Solubilização (IS) do isolados em meio com óxido de zinco.

5.8 Análise conjunta das características de promoção de crescimento dos isolados associados à *Blutaparon portulacoides*

Após a análise conjunta dos resultados qualitativos de promoção de crescimento dos isolados associados a *B. portulacoides* constatou-se que os isolados *Microbacterium sp.* (CaRJ95), *Aeromicrobium sp.* (CaRJ45), *B. siamensis* (CaRJ90) e *B. altitudinis* (CaRJ86) apresentaram características similares de promoção de crescimento, tais como produção de compostos indólicos com e sem adição de NaCl, crescimento em 5% (p/v) de NaCl e Fixação Biológica de Nitrogênio. Enquanto *E. hormaechei* (CaRJ111) e *B. safensis* (CaRJ113), além de compartilharem essas características, solubilizaram Fosfato de Cálcio também em meio com adição de NaCl.

A Solubilização de óxido de Zinco, destacou *P. aeruginosa* (CaRJ81) dos demais isolados quanto ao teste de promoção de crescimento. Por outro lado, *S. tamaricis* (CaRJ75) mostrou resultados superiores em termos de halotolerância e obteve resultados positivos em quase todos os testes de promoção de crescimento, com exceção para solubilização de Óxido de Zinco. Além disso, destacamos que para os isolados *N. kimnyeongensis* (CaRJ34) e *P. deserti* (CaRJ83), não foi realizada a avaliação da produção de compostos indólicos (Figura 10

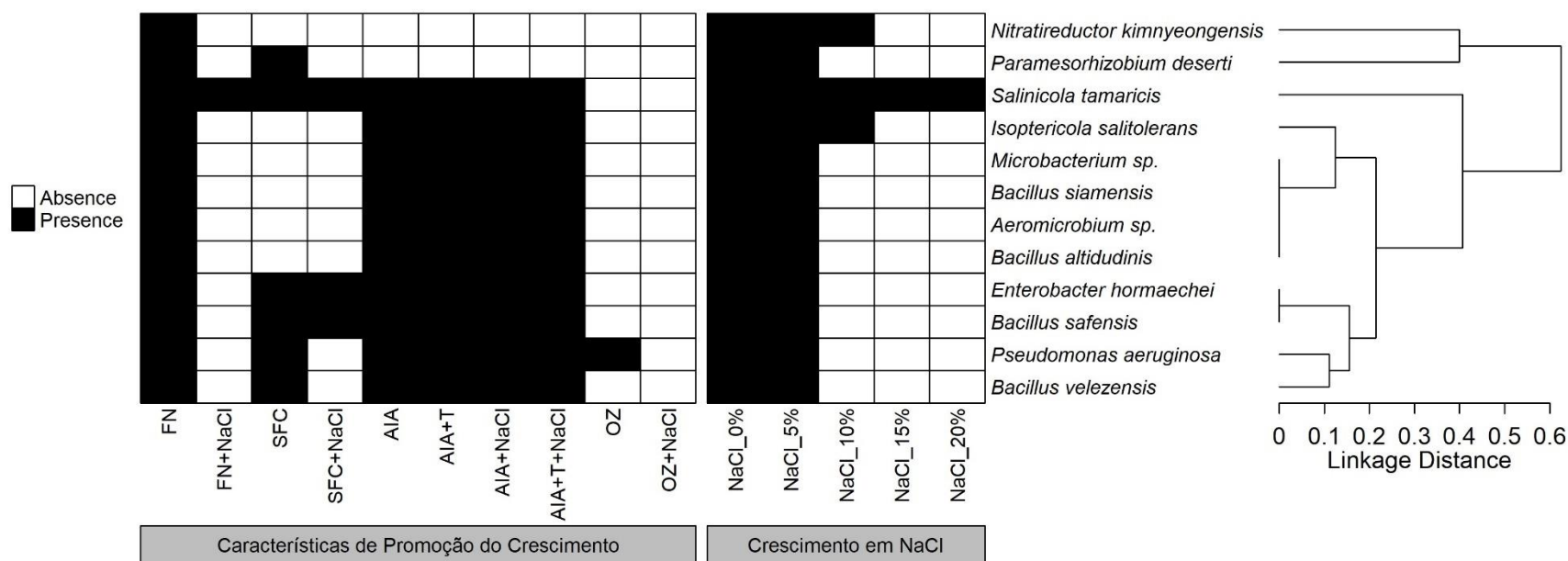


Figura 10: Matriz de presença e ausência com as características de promoção de crescimento e crescimento em NaCl dos isolados bacterianos associados à *Blutaparon portulacoides*. Fixação de Nitrogênio (FN); Fixação de Nitrogênio + NaCl; Solubilização de Fosfato de Cálcio (SFC); Solubilização de Fosfato de Cálcio + NaCl; Produção de Compostos Indólicos sem Triptofano (AIA); Produção de Compostos com adição de Triptofano (AIA + T); Produção de Compostos Indólicos Sem Triptofano + NaCl (AIA + NaCl); Produção de Compostos Indólicos com Triptofano + NaCl ; Solubilização de Óxido de Zinco (OZ); Solubilização de Óxido de Zinco + NaCl (OZ + NaCl) Crescimento dos isolados em meio NB sem NaCl (NaCl_0%); NB + 5% de NaCl (NaCl_5%); NB + NaCl (NaCl_15%); NB + 20% de NaCl (NaCl_20%).

5.9 Avaliação da resistência de *Salinicola tamaricis* (CaRJ75) à crescentes concentrações de NaCl

O isolado *Salinicola tamaricis* (CaRJ75) obtido da placa de Petri contendo meio NB + 20% de NaCl (p/v), foi submetido à análise de tolerância à NaCl com o objetivo de compreender sua capacidade de crescimento em condições crescente de salinidade. O ensaio apontou que o isolado apresenta crescimento visível em concentrações de NaCl variando de 0 a 25,0% (p/v), com melhor desempenho de crescimento em uma concentração de 5,0 (p/v) de NaCl (Figura 11).

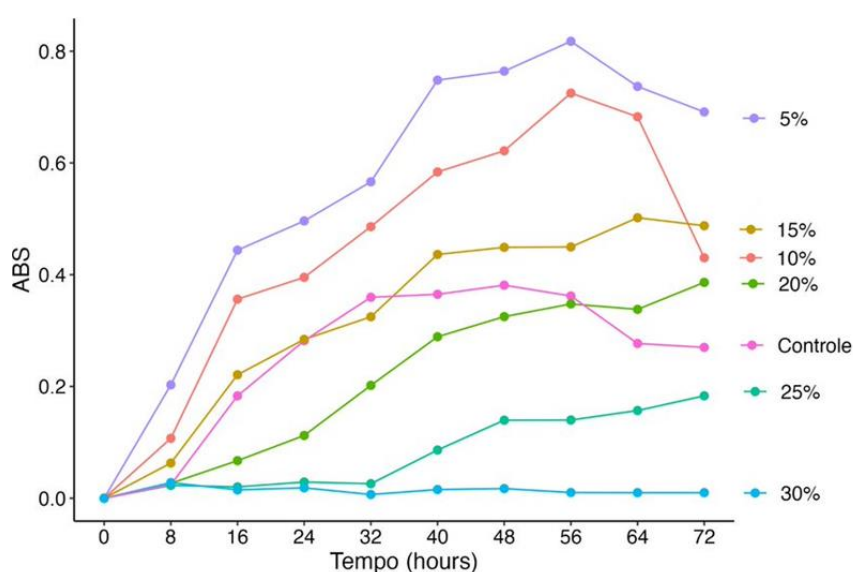


Figura 11: Curva de tolerância à salinidade de *Salinicola tamaricis* (CaRJ75), em concentrações crescentes de NaCl (0-30%) ao longo de 72 horas.

5.10 Avaliação da Solubilização de Fosfato de Cálcio $[Ca_3(PO_4)_2]$ por *Salinicola tamaricis* (CaRJ 75) em Meios com Gradientes Crescentes de NaCl

O teste realizado com a estirpe CaRJ 75 evidenciou que o Índice de Solubilização (IS) foi classificado como médio para concentrações de 0% e 5% de NaCl, enquanto para 10% e 15% de NaCl foi considerado baixo. Em concentrações de 20% de NaCl, não houve crescimento de colônias nem formação de halo solubilizador. Esses resultados estão representados de forma detalhada na Figura 12.

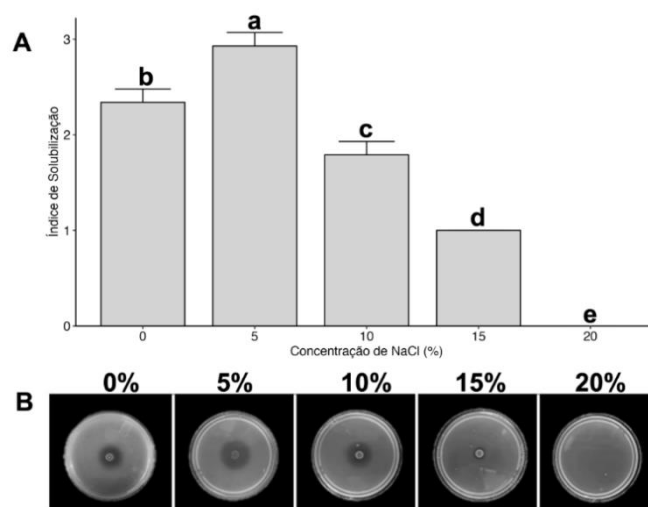


Figura 12. **A** – Índice de Solubilização (IS) de *Salinicola tamaricis* em concentração de 0-20% de NaCl em meio sólido para solubilização de Fosfato de Cálcio $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$. **B** – Imagem das placas de cultivo, evidenciando o halo de solubilização formado. Letra diferentes indicam diferenças significativas (Anova One-way, $p < 0.05$).

6 DISCUSSÃO

6.1 Isolamento de bactérias associadas a plantas halófitas

Nesse estudo, objetivamos prospectar as bactérias associadas à espécie vegetal *Blutaparon portulacoides*, especialmente aquelas capazes de crescer em uma faixa de concentração de 5 a 15% de NaCl (p/v) e de apresentar características associadas a promoção do crescimento vegetal. Adicionalmente, avaliamos como tais características de promoção são afetadas pela exposição das bactérias à salinidade

Dentre os 12 isolados identificados, quatro pertencem ao gênero *Bacillus*: *Bacillus siamensis*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus safensis* e *Bacillus velezensis*. Tal gênero compreende uma ampla e diversificada gama de bactérias, encontradas em múltiplos ambientes (Abriouel et al., 2011). Essas espécies são reconhecidas por sua resistência e adaptabilidade a condições ambientais adversas. Em particular, cepas isoladas de ambientes hostis demonstram uma notável robustez, inclusive na produção de enzimas específicas. Essas condições desafiadoras podem envolver altas temperaturas, baixo pH e elevada salinidade (Djelid et al., 2023).

Os quatro isolados pertencentes ao gênero *Bacillus*, mostraram resistência a 5% de NaCl. Estudos anteriores identificaram que a espécie *B. siamensis* é capaz de crescer em concentrações de NaCl que variam de 0% a 14%, com seu crescimento ideal ocorrendo na ausência de NaCl (Sumpavapol et al., 2010). Da mesma forma, *B. safensis* (CaRJ113) exibiu crescimento em concentrações de NaCl variando de 0% a 16% (Wu et al., 2019). enquanto *B. velezensis* (CaRJ97) foi capaz de prosperar em até 12% de NaCl (Ji et al., 2021), e *B. altitudinis* (CaRJ86) demonstrou crescimento em concentrações de NaCl de até 12% (Yue et al., 2019). Esses resultados destacam a capacidade adaptativa do gênero *Bacillus* em sobreviver e se desenvolver em condições de salinidade.

Algumas espécies de *Microbacterium sp.* foram previamente identificadas como halotolerantes, sendo capazes de crescer em até 5% de NaCl (Zhang et al., 2017). Nossos ensaios revelaram que um isolado pertencente a este gênero foi capaz de crescer em 5% de NaCl, corroborando com tais estudos. Similarmente, um isolado do gênero *Aeromicrobium* foi capaz de crescer na presença de 5% de NaCl. Espécies do gênero *Aeromicrobium* têm sido descritas como halotolerantes, com ênfase à espécie *A. halotolerans* (Tuo, Yan & Liu, 2020; Zhaoi et al., 2020).

Dentre as espécies que se mostraram tolerantes a 5% de NaCl, foi identificada também a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. A *P. aeruginosa*, uma bactéria comum em ambientes

marinhos, exibe resistência à salinidade, como demonstrado pela adaptação fisiológica da cepa marinha 1200 ao ambiente oceânico (Khan et al., 2010). A diversidade genética e a distribuição geográfica dessas estirpes marinhas de *P. aeruginosa* também foram relacionadas à sua adaptação a diferentes níveis de salinidade (Khan et al., 2007). Essas descobertas destacam a diversidade e a capacidade adaptativa das bactérias em ambientes desafiadores.

Também dentre os isolados tolerantes a 5% de NaCl, foi identificada a bactéria *Paramesorhizobium deserti*. Tal bactéria pertence a um novo gênero, isolado do deserto de Taklimakan (Xinjiang, China) e tem sido destacada por sua resistência a múltiplos antibióticos, incluindo kanamicina, eritromicina e estreptomicina (Xue-Song et al., 2015). Porém, este é o primeiro trabalho a relatar a resistência desta bactéria à salinidade.

Dois isolados, *Nitratireductor kimnyeongensis* e *Isoptericola saltitolerans*, foram capazes de crescer em até 10% de NaCl. Estudos anteriores relataram o isolamento da bactéria *I. saltitolerans* em elevada salinidade (22,5%), apresentando concentração ideal de crescimento de 9 - 11% de NaCl (Guan et al., 2013). *N. kimnyeongensis* também é uma bactéria previamente associada a ambiente marinho, tendo sido previamente isolada de algas marinhas. Segundo os autores Kang, Yang & Lee (2009), naquele trabalho, *N. kimnyeongensis* foi capaz de crescer em até 7% de NaCl. Nossos dados, portanto, indicam um maior nível de tolerância a salinidade para esta bactéria (10% NaCl).

Dentre as bactérias isoladas, apenas um único isolado, identificado como *Salinicola tamaricis*, demonstrou crescimento no meio NB com adição de 20% de NaCl. Em análises subsequentes, como a avaliação de resistência à salinidade, verificou-se sua capacidade de crescer em concentrações de até 25% de NaCl (p/v). Esses resultados corroboram com os achados descritos para a espécie por Zhao et al. (2017). Considerando sua elevada tolerância a salinidade, as características desta bactéria serão discutidas posteriormente.

6.2 Fixação Biológica de Nitrogênio

Todas as estirpes caracterizadas neste trabalho apresentaram resultado positivo para fixação biológica de nitrogênio (FBN), após as cinco repicagens em meio JFNb. A capacidade de realizar FBN, para espécies de cada um dos gêneros estudados, foi previamente demonstrada, incluindo *Bacillus safensis*, *Bacillus siamensis* (Altimira et al., 2022; Gorai et al., 2021), *Enterobacter hormaechei* (Aidilfitri et al., 2021; Ranawat et al., 2021), *Nitratireductor kimnyeongensis*, *Paramesorhizobium deserti*, *Microbacterium* sp. (Lin et al., 2012; Zhang et al., 2021), *Bacillus altitudinis* (Pranaw et al., 2020; Cortese et al., 2021), *Pseudomonas aeruginosa* (Roychowdhury, 2017), *Bacillus velezensis* (Torres et al., 2020).

Porém, dentre os 12 isolados, o isolado *S. tamaricis* (CaRJ75), foi o único que exibiu a capacidade de FBN mesmo na presença de 5% NaCl. O aumento da concentração de NaCl pode influenciar negativamente a fixação de nitrogênio em bactérias, pois altas concentrações desse sal podem exercer estresse osmótico sobre as células bacterianas, afetando sua atividade metabólica e, consequentemente, sua capacidade de fixar nitrogênio (El-Fadaly et al., 2019). Em nossos ensaios, *S. tamaricis* (CaRJ75) mostrou-se relevante ao manter sua capacidade de fixação de nitrogênio mesmo sob condições salinas, sugerindo uma adaptação eficaz a ambientes salinos e destacando seu potencial para ambientes com altos níveis de salinidade.

6.3 Bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico

Os resultados dos testes de solubilização de fosfato de cálcio destacaram seis estirpes bacterianas capazes de realizar essa função, reforçando informações anteriores na literatura que indicam a diversidade de microrganismos com essa habilidade (Etesami & Glick et al., 2018; Dey et al., 2021).

Ao considerarmos o impacto da salinidade no processo de solubilização de fosfato, notamos que o sal afeta o crescimento e a proliferação das células microbianas, e a formação do halo de solubilização, uma vez que o resultado das estirpes capazes de realizar a solubilização em meio com NaCl diminuiu em 50%, levando a uma redução na eficiência desse mecanismo de promoção de crescimento. Além disso, o IS das estirpes que solubilizaram fosfato de cálcio em 5% NaCl foi menor que no meio sem NaCl.

Vários estudos ressaltam a complexidade da interação entre as concentrações de NaCl e a capacidade de solubilização de fosfato de cálcio por microrganismos. Enquanto algumas cepas bacterianas demonstram um aumento na solubilização na presença de concentrações moderadas de NaCl, outras mostram uma redução ou tolerância variável ao sal (Jha, Saxena & Sharma, 2014; Abdelmoteleb & Gonzalez-Mendoza, 2020). Além disso, a relação entre a concentração de NaCl e a liberação de fosfato inorgânico parece ser não linear, com uma tendência de aumento seguida de uma diminuição. Essas nuances destacam a importância de uma compreensão abrangente dos efeitos do NaCl nas atividades metabólicas dos microrganismos solubilizadores de fosfato.

Diversos estudos têm abordado a capacidade de solubilização de fosfato, tanto inorgânico quanto orgânico, por bactérias, com destaque para espécies do gênero *Bacillus*. Por exemplo, Afzal et al. (2023) isolaram 14 estirpes bacterianas, das quais *B. velezensis*, *B. subtilis* e *B. safensis* demonstraram forte potencial de solubilização de fosfato de cálcio, além de produzirem ácidos orgânicos como ácido glucônico, ácido málico e ácido acético.

Especificamente, a estirpe *B. velezensis* mostrou o maior potencial na produção de ácidos orgânicos, indicando um possível aumento na acumulação de fósforo e outros macronutrientes quando inoculadas no solo (Wu et al., 2019).

Por outro lado, Egamberdieva et al. (2014) investigaram a capacidade de *Enterobacter hormaechei* em solubilizar fosfato de cálcio em diferentes níveis de salinidade. Eles observaram que essa cepa foi capaz de solubilizar fosfato na presença de 2% de NaCl, porém não a 3% de NaCl. Em contrapartida, em nosso estudo, a estirpe *E. hormaechei* (CaRJ111) demonstrou capacidade de solubilizar fosfato de cálcio mesmo em concentrações de até 5% de NaCl. No entanto, sua eficiência foi mais acentuada em meios isentos de NaCl (Aidilfitri et al., 2021).

Segundo Buch, Archana & Kumar (2008), a maioria das bactérias solubilizadoras de fosfato, como as espécies de *Pseudomonas*, o processo de liberação de fósforo de fosfatos minerais pouco solúveis ocorre através da produção de altos níveis de ácido glucônico a partir da glicose extracelular. Essa reação é mediada pela glicose desidrogenase periplasmática, um componente essencial do metabolismo da glicose em pseudomonadas. Alinhado a esse mecanismo, em nossos estudos, observamos *P. aeruginosa* (CaRJ81) também foi capaz de solubilizar fosfato de cálcio.

6.4 Produção de compostos indólicos

Nossos resultados revelaram um padrão distinto na resposta das cepas bacterianas à salinidade em relação à produção de compostos indólicos, especialmente quando o meio estava suplementado com triptofano. Nossos resultados demonstraram que *P. aeruginosa* (CaRJ81), *E. hormaechei* (CaRJ111), *B. velezensis* (CaRJ97) e *B. siamensis* (CaRJ90) apresentaram uma redução significativa na produção desses compostos quando expostos ao NaCl, mesmo na presença de triptofano. Molina et al., (2018) constatou que a produção de *Azospirillum brasiliense* de crescer e regular a biossíntese de AIA é afetado por uma ampla gama de diferentes fatores, como a salinidade, que afetou negativamente a produção desses compostos pela bactéria. Por outro lado, as cepas de *Microbacterium* e *B. altitudinis* (CaRJ86) exibiram um aumento na produção de compostos indólicos na presença de NaCl, mas somente quando o meio não continha triptofano, destacando uma resposta diferenciada dessas bactérias à salinidade. Porém, para outras estirpes como não foram observadas diferenças significativas na produção de compostos indólicos em relação à salinidade no meio sem adição de triptofano. Além disso, embora em *Microbacterium sp.* (CaRJ95) e *B. altitudinis* (CaRJ86) a salinidade tenha mostrado uma influência positiva na produção de compostos indólicos na

ausência de triptofano, essa tendência não se manteve no ensaio com adição de triptofano, sendo menor a produção desse composto em relação ao tratamento com adição de NaCl.

Há relatos na literatura de diversas bactérias como *Pseudomonas* sp., *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp., *Serratia* sp e *Enterobacter* sp. contribuem para a secreção de AIA, impactando diretamente nos processos de crescimento das plantas (Etesami & Glick, 2024). Além disso, há uma lacuna significativa no conhecimento sobre os efeitos do sal nas características de Promoção de Crescimento de Plantas (PGP), especialmente em relação a espécies estudadas. Segundo Oliva et al., (2023) a produção de compostos indólicos em cepas de *Bacillus* e *Pseudomonas* são reguladas de forma diferencial pelo NaCl e cepa específica. Molina et al. (2018) investigaram como a presença de estresse salino afeta a produção de ácido indolacético (AIA) pelo *Azospirillum brasilense* Az39. Eles observaram uma diminuição significativa na produção de AIA pela cepa Az39 sob condições de estresse salino. Enquanto que o estudo de Imperline et al. (2009) mostrou que a produção de AIA por *Sinorhizobium meliloti* resultou na ativação da resposta ao estresse abiótico

A produção de auxina desempenha um papel essencial na interação entre bactérias e plantas, influenciando processos de desenvolvimento e resposta a estímulos ambientais (Duca & Glick, 2020; Etesami & Glick, 2024). No contexto do presente estudo, a avaliação da produção de auxina em diferentes tratamentos revelou uma notável variabilidade nos resultados obtidos. A diversidade nos níveis de produção de auxina entre os tratamentos sugere a influência de múltiplos fatores experimentais ou ambientais na regulação desse composto por bactérias. As disparidades observadas nos níveis de auxina produzidos em resposta a diferentes condições experimentais destacam a complexidade da regulação hormonal em bactérias e a necessidade de uma análise aprofundada para elucidar os mecanismos subjacentes a essas variações.

6.5 Solubilização de óxido de zinco

Em nossas análises, apenas o isolado *P. aeruginosa* (CaRJ81) demonstrou capacidade de solubilizar óxido de zinco, e em meios isentos de NaCl. Fazin et al., (2002) investigaram a solubilização desse composto por *P. aeruginosa*, destacando a significância desse processo, no qual as colônias bacterianas foram capazes de gerar halos claros em meio sólido contendo o óxido de zinco insolúvel. O estudo ressaltou a importância da presença de glicose como fonte de carbono para desencadear essa solubilização, além de evidenciar o papel crucial do ácido 2-cetoglucônico na interação eficaz desses microrganismos com os compostos metálicos insolúveis. Estudos anteriores também corroboraram a habilidade de bactérias

Pseudomonas em solubilizar óxido de zinco, reforçando sua relevância na ciclagem desse elemento no ambiente (Nagaraju, Gundappagol & Mahadevaswamy et al., 2020; Pirhadi et al., 2016).

6.6 A resistência de *Salinicola tamaricis* às crescentes concentrações de NaCl

Salinicola tamaricis (CaRJ75) demonstrou elevada resistência à salinidade, sendo capaz de crescer em até 25% de NaCl (p/v). A exposição a crescentes concentrações de NaCl revelou que, na presença de concentrações de 5, 10 e 15% de NaCl, o crescimento bacteriano foi superior à condição controle, indicando a alta adaptação desta bactéria a condições de hipersalinidade.

S. tamaricis tem sido descrita como uma bactéria promotora do crescimento vegetal, halotolerante, altamente tolerante a metais tóxicos (Zhao et al., 2017). Embora alguns estudos tenham identificado estirpes de *S. tamaricis* capazes de fixar nitrogênio (Saryanah et al., 2023), o presente estudo é o primeiro a demonstrar sua capacidade de fixação de nitrogênio na presença de 5% de NaCl (p/v).

Similarmente, este é o primeiro trabalho a avaliar a capacidade desta bactéria em solubilizar fosfato de cálcio sob crescentes concentrações de NaCl. A bactéria é capaz de solubilizar fosfato de cálcio sob até 15% de NaCl, sendo seu ótimo em 5% de NaCl. Essa adaptação sugere uma estratégia metabólica única para otimizar o crescimento e a atividade biológica em ambientes salinos, abrindo novas perspectivas para aplicações biotecnológicas e agrícolas. Entretanto, como abordado no tópico anterior, novos métodos de quantificação de solubilização de fosfato de cálcio precisam ser testados para a confirmação desses resultados.

7 CONCLUSÕES

- Nosso trabalho permitiu identificar bactérias halotolerantes associadas à *Blutaparon portulacoides* que apresentem características de promoção do crescimento vegetal.
- Foram identificadas 12 isolados bacterianos capazes de crescer na presença de concentrações iguais ou superiores a 5% de NaCl. Destas duas foram capazes de crescer em até 10% de NaCl, e uma em até 25%. Juntos estes dados confirmam que espécies vegetais de restinga, com ênfase a *B. portulacoides*, representam promissoras fontes para prospecção de microrganismos tolerantes a condições ambientais adversas.
- Dentre as bactérias identificadas, a BPCV *S. tamaricis* (CaRJ75) revelou-se especialmente promissora, em virtude de sua elevada halotolerância (25% NaCl), e a capacidade de fixar nitrogênio, produzir AIA e solubilizar fosfato de cálcio, mesmo na presença de NaCl.
- Juntos, os dados obtidos no presente trabalho abrem novas perspectivas para o estudo de bactérias halotolerantes provenientes de ambientes de restinga. Futuros ensaios abordando o efeito da inoculação com tais bactérias em plantas de interesse agrônômico permitirão avaliar o potencial destes microrganismos com promotores do crescimento vegetal.

8 REFERÊNCIAS

- ABAY, K. A., et al. The Russia-Ukraine war: Implications for global and regional food security and potential policy responses. **Global Food Security**, v. 36, p. 100675, 2023.
- ABBAS, R., et al. Halotolerant PGPR: A hope for cultivation of saline soils. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31, n. 4, p. 1195-1201, 2019.
- ABDELMOTELEB, A., GONZALEZ-MENDOZA, D. Isolation and identification of phosphate solubilizing *Bacillus* spp. from *Tamarix ramosissima* rhizosphere and their effect on growth of *Phaseolus vulgaris* under salinity stress. **Geomicrobiology Journal**, v. 37, n. 10, p. 901-908, 2020.
- ABDELFATTAH, A. et al. Evidence for host-microbiome co-evolution in apple. **New Phytologist**, v. 234, n. 6, p. 2088-2100, 2022.
- ABEBE, F., ALAMIREW, T., ABEGAZ, F. Appraisal and mapping of soil salinity problem in amibara irrigation Farms, middle awash basin, Ethiopia. **International Journal of Innovation and Scientific Research**, v. 13, n. 1, p. 298-314, 2015.
- ABRIOUEL, H. et al. Diversity and applications of *Bacillus bacteriocins*. **FEMS microbiology reviews**, v. 35, n. 1, p. 201-232, 2011.
- AFZAL, A. et al. Rock phosphate solubilization by plant growth-promoting *Bacillus velezensis* and its impact on wheat growth and yield. **Geomicrobiology Journal**, v. 40, n. 2, p. 131-142, 2023.
- AGUDELO, C. Amaranthaceae. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D. C. Colombia, Flora de Colombia, n. 23, 2008
- ALI, S. et al. Deciphering the plant microbiome to improve drought tolerance: Mechanisms and perspectives. **Environmental and Experimental Botany**, v. 201, p. 104933, 2022.
- ALJOHNY, B. O. Halophilic bacterium—a review of new studies. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v. 12, n. 3, p. 2061-2069, 2015.
- ALKHALAF, L. M., RYAN, K. S. Biosynthetic manipulation of tryptophan in bacteria: pathways and mechanisms. **Chemistry & biology**, v. 22, n. 3, p. 317-328, 2015.
- ALLOWAY, B.J. Zinc in soils and crop nutrition. **International zinc association International fertilizer industry association**, Belgium, France, pp 1–54, 2008
- ALTIMIRA, F. et al. Genomic and Experimental Analysis of the Biostimulant and Antagonistic Properties of Phytopathogens of *Bacillus safensis* and *Bacillus siamensis*. **Microorganisms**, v. 10, n.4, p. 670, 2022.

- ALTSCHUL, S. F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of molecular biology**, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990.
- ANGELAKIS, A. N. et al. Irrigation of World Agricultural Lands: Evolution through the Millennia. **Water**. 12 (5), 1285. 2020.
- ANSARI, M.I. Plant microbiome and its functional mechanism in response to environmental stress. **International Journal of Green Pharmacy (IJGP)**, v. 12, n. 01, 2018.
- ARIF, Y. et al. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 156, p. 64-77, 2020.
- ARORA, N.K. et al. Halo-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for improving productivity and remediation of saline soils. **Journal of Advanced Research**, v. 26, p. 69-82, 2020.
- Arruda, R. C. O., Viglio, N. S. F., & Barros, A. A. M. Anatomia foliar de halófitas e psamófilas reptantes ocorrentes na restinga de Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, 60, 333-352, 2009.
- ASSUMPÇÃO, J.A.N. & NASCIMENTO, M.T. Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no complexo lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, R.J, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 14: 301–315, 2000.
- BAI, J. et al. Organic phosphorus mineralization characteristics in sediments from the coastal salt marshes of a Chinese delta under simulated tidal cycles. **Journal of soils and sediments**, v. 20, p. 513-523, 2020.
- BANIN, A., FISH, A. Secondary desertification due to salinization of intensively irrigated lands: The Israeli experience. **Environmental monitoring and assessment**, v. 37, p. 17-37, 1995.
- BARBOSA, D.C. et al. *Halobacillus blutaparonensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from blutaparon portulacoides roots in Brazil. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 16, n. 12, p. 1862, 2006.
- BASHIR, I. et al. Phyllosphere microbiome: Diversity and functions. **Microbiological Research**, v. 254, p. 126888, 2022.
- BATES, B., KUNDZEWICZ, Z., WU, S. **Climate change and water**. Intergovernmental Panel on Climate Change Secretariat, 2008.
- BAUER, S. E., TSIGARIDIS, K., & MILLER, R. Significant atmospheric aerosol pollution caused by world food cultivation. *Geophysical Research Letters*, 43(10), 5394-5400, 2016.
- BEN R, I., PASTOR, V., MAUCH-MANI, B. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. **Plants**, v. 3, n. 4, p. 458-475, 2014.
- BERENDSEN, R. L., PIETERSE, C. M.J., BAKKER, P.A. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in plant science**, v. 17, n. 8, p. 478-486, 2012.

- BERNHARD, A. The nitrogen cycle: processes. **Players, and Human**, v. 3, n. 10, p. 25, 2010.
- BERRAQUERO, F. R., BAYA, A. M., CORMENZANA, A. R. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **Ars Pharmaceutica** v. 17, n. 4, 399-406, 1976.
- BHATT, R., HOSSAIN, A., SHARMA, P. Zinc biofortification as an innovative technology to alleviate the zinc deficiency in human health: A review. **Open Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 176-187, 2020.
- BHATTACHARJEE, R.B., SINGH, A., MUKHOPADHYAY, S. N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 80, p. 199-209, 2008.
- BILLAH, M. et al. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. **Geomicrobiology Journal**, v. 36, n. 10, p. 904-916, 2019.
- BOEGER, M.R.T., GLUZEZAK, R.M. Adaptações estruturais de sete espécies de plantas para as condições ambientais da área de dunas de Santa Catarina, Brasil. *Iheringia, Série Botânica*, v. 61, n. 1/2, p. 73-82, 2006.
- BUCH, A., ARCHANA, G., KUMAR, G. N. Metabolic channeling of glucose towards gluconate in phosphate-solubilizing *Pseudomonas aeruginosa* P4 under phosphorus deficiency. **Research in microbiology**, v. 159, n. 9-10, p. 635-642, 2008.
- BULGARELLI, D. et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, v. 64, p. 807-838, 2013.
- BUTCHER, K. et al. Soil salinity: A threat to global food security. **Agronomy Journal**, v. 108, n. 6, p. 2189-2200, 2016.
- CALVO, P. et al. Plants are intelligent, here's how. **Annals of Botany**, v. 125, n. 1, p. 11-28, 2020.
- CHAUHAN, P.S. et al. Transcriptional alterations reveal *Bacillus amyloliquefaciens*-rice cooperation under salt stress. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 11912, 2019.
- CORDAZZO, C. Effects of salinity and sand burial on germination and establishment of *Blutaparon portulacoides* (St. Hil.) Mears (Amaranthaceae) on backshore of southern Brazil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 2, p. 94-100, 2007.
- CUEVAS, J. et al. A review of soil-improving cropping systems for soil salinization. **Agronomy**, v. 9, n. 6, p. 295, 2019.
- DABA, A.K., QURESHI, A.S. Review of soil salinity and sodicity challenges to crop production in the lowland irrigated areas of Ethiopia and its management strategies. **Land**, v. 10, n. 12, p. 1377, 2021.
- DANGL, J. L., JONES, J.D.G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. **Nature**, v. 411, n. 6839, p. 826-833, 2001.

- DASGUPTA, S. et al. Climate change and soil salinity: The case of coastal Bangladesh. **Ambio**, v. 44, p. 815-826, 2015.
- DAVIES-BARNARD, T., FRIEDLINGSTEIN, P. The global distribution of biological nitrogen fixation in terrestrial natural ecosystems. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 34, n. 3, p. e2019GB006387, 2020.
- DE FRAITURE, C., WICHELNS, D. Satisfying future water demands for agriculture. **Agricultural water management**, v. 97, n. 4, p. 502-511, 2010.
- DELAUX, P.-M., SCHORNACK, S. Plant evolution driven by interactions with symbiotic and pathogenic microbes. **Science**, v. 371, n. 6531, p. eaba6605, 2021.
- DEY, G. et al. Management of phosphorus in salinity-stressed agriculture for sustainable crop production by salt-tolerant phosphate-solubilizing bacteria—A review. **Agronomy**, v. 11, n. 8, p. 1552, 2021.
- DICKSON, W. C. Integrative plant anatomy. San Diego. HP Harcourt. 2000.
- DJELID, H. et al. High NaCl concentrations induce the resistance to thermal denaturation of an extremely halotolerant (salt-activated) β -mannanase from *Bacillus velezensis* H1. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 11, p. 304, 2023.
- DÖBEREINER, J., BALDANI, V.L.D., BALDANI, J.I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. **Embrapa SPI**, 1995.
- DOS DANTOS, J. N. et al. Exploring salt-tolerant bacterial communities and salt-tolerant mechanisms in plants: A review. **Microbiological Research**, v. 247, p. 126736, 2021.
- DUCA, D. R. & GLICK, B. R. Indole-3-acetic acid biosynthesis and its regulation in plant-associated bacteria. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, p. 8607-8619, 2020.
- EGAMBERDIEVA, D. et al. Secondary salinity effects on soil microbial biomass. **Biology and Fertility of Soils**, v. 46, p. 445-449, 2010.
- EGAMBERDIEVA, D. et al. Plant hormones as key regulators in plant-microbe interactions under salt stress. **Plant Microbiome: Stress Response**, 2018.
- EL-FADALY, H., EL KADI, S., E.-M. Isolation, Characterization and Identification of Salt Tolerant Nitrogen Fixing Bacteria. **Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 73-78, 2019.
- ELHAISSOUFI, W. et al. Phosphate bacterial solubilization: a key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. **Journal of Advanced Research**, v. 38, p. 13-28, 2022.
- ERISMAN, J.W. et al. **Nitrogen: too much of a vital resource: Science Brief**. WWF Netherlands, 2015.

- ETESAMI, H., & BEATTIE, G. A Plant–microbe interactions in adaptation of agricultural crops to abiotic stress conditions. In *Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants*. **Springer**, Cham, 2016. p. 343-365.
- ETESAMI, H., & BEATTIE, G. A. Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 148, 2018.
- ETESAMI, H., & GLICK, B; R. Halotolerant plant growth–promoting bacteria: Prospects for alleviating salinity stress in plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 178, p. 104124, 2020.
- ETESAMI, H., & GLICK, B. R. Bacterial indole-3-acetic acid: A key regulator for plant growth, plant-microbe interactions, and agricultural adaptive resilience. **Microbiological Research**, p. 127602, 2024.
- FOX J, Weisberg S (2019). *_An R Companion to Applied Regression_*, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA.
<<https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>>.
- GAO, W. et al. Response of microbial community structure and metabolic function to long-term multiple cropping systems. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1433, 2019.
- GAO, M. et al. Disease-induced changes in plant microbiome assembly and functional adaptation. **Microbiome**, v. 9, p. 1-18, 2021.
- GEBREHIWOT, K.A. A review on waterlogging, salinization and drainage in Ethiopian irrigated agriculture. **Sustainable Water Resources Management**, v. 4, p. 55-62, 2018.
- GOLDSTEIN, A. H. Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. **American Journal of Alternative Agriculture**, 1986.
- GONG, Z. et al. Plant abiotic stress response and nutrient use efficiency. **Science China Life Sciences**, v. 63, p. 635-674, 2020.
- GORAI, P.S. et al. *Bacillus siamensis* CNE6-a multifaceted plant growth promoting endophyte of *Cicer arietinum* L. having broad spectrum antifungal activities and host colonizing potential. **Microbiological Research**, v. 252, p. 126859, 2021.
- GROSSIORD, C. et al. Plant responses to rising vapor pressure deficit. **New phytologist**, v. 226, n. 6, p. 1550-1566, 2020.
- GUAN, T.-W. et al. *Isoptericola salitolerans* sp. nov., a halotolerant filamentous actinobacterium isolated from a salt lake, China. **Extremophiles**, v. 17, p. 471-476, 2013.
- GUPTA, S; PANDEY, S. Enhanced salinity tolerance in the common bean (*Phaseolus vulgaris*) plants using twin ACC deaminase producing rhizobacterial inoculation. **Rhizosphere**, 2020.

- GUYONNET, J. P. et al. Root exudation rate as functional trait involved in plant nutrient-use strategy classification. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 16, p. 8573-8581, 2018.
- HAICHAR, F. Z. et al. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. **The ISME journal**, v. 2, n. 12, p. 1221-1230, 2008.
- HAQUE, M.M. et al. Halotolerant biofilm-producing rhizobacteria mitigate seawater-induced salt stress and promote growth of tomato. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 5599, 2022.
- HARDOIM, P.R.; et al. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in microbiology**, 2008.
- HARTMANN, M., SIX, J., Soil structure and microbiome functions in agroecosystems. **Nature Reviews Earth & Environment**, v. 4, n. 1, p. 4-18, 2023.
- HASSANI, M. A., DURÁN P., & HACQUARD, S. Microbial interactions within the plant holobiont. **Microbiome** 6 (1): 58. 2018.
- HASSANI, A., AZAPAGIC, A., & SHOKRI, N. Predicting long-term dynamics of soil salinity and sodicity on a global scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 52, p. 33017-33027, 2020.
- HASSANI, A., AZAPAGIC, A., & SHOKRI, N. Global predictions of primary soil salinization under changing climate in the 21st century. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 6663, 2021.
- HASSANI, M. A., DURÁN, P., & HACQUARD, S. Microbial interactions within the plant holobiont. **Microbiome**, v. 6, p. 1-17, 2018.
- HEGER, M.P., ZENS, G., & BANGALORE, M. Terra e pobreza: o papel da fertilidade do solo e da qualidade da vegetação na redução da pobreza. **Economia do Meio Ambiente e do Desenvolvimento** , v. 25, n. 4, pág. 315-333, 2020.
- HEYDARIAN, Z. et al. Gene expression patterns in shoots of *Camelina sativa* with enhanced salinity tolerance provided by plant growth promoting bacteria producing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase or expression of the corresponding acdS gene. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 4260, 2021.
- HOFFMAN, B. M. et al. Mechanism of nitrogen fixation by nitrogenase: the next stage. **Chemical reviews**, v. 114, n. 8, p. 4041-4062, 2014.
- IDRIS, E. E. et al. Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 20, n. 6, p. 619-626, 2007.
- IMPERLINI, E. et al. Effects of indole-3-acetic acid on *Sinorhizobium meliloti* survival and on symbiotic nitrogen fixation and stem dry weight production. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 83, p. 727-738, 2009.
- IRFAN, M. et al. Silicon nutrition in plants under water-deficit conditions: overview and prospects. **Water**, v. 15, n. 4, p. 739, 2023.

- JAMIL, A. et al. Gene expression profiling of plants under salt stress. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 30, n. 5, p. 435-458, 2011.
- JHA, A., SAXENA, J., & SHARMA, V. Investigation on phosphate solubilization potential of agricultural soil bacteria as affected by different phosphorus sources, temperature, salt, and pH. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 44, n. 16, p. 2443-2458, 2013.
- Ji, C. et al. Effect of *Bacillus velezensis* JC-K3 on Endophytic Bacterial and Fungal Diversity in Wheat Under Salt Stress. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 802054, 2021.
- JIANG, B. et al. Molecular mechanism of *Tsukamurella tyrosinosolvens* strain P9 in response to root exudates of peanut. **Archives of Microbiology**, v. 205, n. 1, p. 48, 2023.
- JONES, P. et al. Plant host-associated mechanisms for microbial selection. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 452782, 2019.
- KAMRAN, S. et al. Contribution of zinc solubilizing bacteria in growth promotion and zinc content of wheat. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 322772, 2017.
- KANG, H.s.; YANG, H. L., & LEE, S. D. *Nitratedreductor kimnyeongensis* sp. nov., isolated from seaweed. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 59, n. 5, p. 1036-1039, 2009.
- KASSAMBARA, Alboukadel. Rstatix: pipe-friendly framework for basic statistical tests. 2021. 2023.
- KAUR, C.; Selvakumar, G.; & Ganeshamurthy, A. N. Organic acids in the rhizosphere: their role in phosphate dissolution. **Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity**, Vol. 2: Functional Applications, p. 165-177, 2016.
- KAWASAKI, A. et al. Manipulating exudate composition from root apices shapes the microbiome throughout the root system. **Plant Physiology**, v. 187, n. 4, p. 2279-2295, 2021.
- KESWANI, C. et al. Auxins of microbial origin and their use in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 8549-8565, 2020.
- KHALID, A. et al. Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils. **Soil Research**, v. 42, n. 8, p. 921-926, 2004.
- KHAN, A. A. et al. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. **J. agric. biol. sci**, v. 1, n. 1, p. 48-58, 2009.
- KHAN, N. H. et al. Culturability and survival of marine, freshwater and clinical *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbes and environments**, v. 25, n. 4, p. 266-274, 2010.
- KHAN, N. H. et al. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical, and animal isolates. **Microbial ecology**, v. 53, p. 173-186, 2007.

- KRAVCHENKO, L. V. et al. The effect of tryptophan present in plant root exudates on the phytostimulating activity of rhizobacteria. **Microbiology**, v. 73, n. 2, p. 156-158, 2004.
- KUDOYAROVA, G., ARKHIPOVA, T., & DODD, I. C. Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 483140, 2019.
- KUMAR, P., & SHARMA, P. K. Soil salinity and food security in India. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 533781, 2020.
- KUSTER, V. C. et al. Structural adaptation and anatomical convergence in stems and roots of five plant species from a "Restinga" sand coastal plain. *Flora*, v. 243, p. 77-87, 2018.
- LEAL FILHO, W. et al. How the War in Ukraine Affects Food Security. **Foods**, v. 12, n. 21, p. 3996, 2023.
- LEONTIDOU, K. et al. Plant growth promoting rhizobacteria isolated from halophytes and drought-tolerant plants: Genomic characterisation and exploration of phyto-beneficial traits. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 14857, 2020.
- LIN, S.-Y. et al. *Aeromicrobium terrae* sp. nov., isolated from a maize field. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 71, n. 2, p. 004616, 2021.
- LIU, H. et al. An ecological loop: host microbiomes across multitrophic interactions. **Trends in ecology & evolution**, v. 34, n. 12, p. 1118-1130, 2019.
- LIU, J., & WANG, X. Plant diseases and pests detection based on deep learning: a review. **Plant Methods**, v. 17, p. 1-18, 2021.
- LIU, S. et al. Transcriptome profiling of genes involved in induced systemic salt tolerance conferred by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 in *Arabidopsis thaliana*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 10795, 2017.
- MALBOOBI, M,A, et al. Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 1471-1477, 2009.
- MARASCO, R, et al. *Salicornia strobilacea* (synonym of *Halocnemum strobilaceum*) grown under different tidal regimes selects rhizosphere bacteria capable of promoting plant growth. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1286, 2016.
- MARASCO, R. et al. The plant rhizosheath–root niche is an edaphic “mini-oasis” in hyperarid deserts with enhanced microbial competition. **ISME Communications**, v. 2, n. 1, p. 47, 2022.
- MESNY, F., HACQUARD, S., & THOMMA, B. Co-evolution within the plant holobiont drives host performance. **EMBO reports**, v. 24, n. 9, p. e57455, 2023.
- MOHANAVELU, A., NAGANNA, S. R., AL-ANSARI, N. Irrigation induced salinity and sodicity hazards on soil and groundwater: An overview of its causes, impacts and mitigation strategies. **Agriculture**, v. 11, n. 10, p. 983, 2021.

- MOHANRAM, S., & KUMAR, P. Rhizosphere microbiome: revisiting the synergy of plant-microbe interactions. **Annals of Microbiology**, v. 69, p. 307-320, 2019.
- MOLINA, R. et al. Regulation of IAA biosynthesis in *Azospirillum brasilense* under environmental stress conditions. **Current microbiology**, v. 75, p. 1408-1418, 2018.
- MOLOTOKS, A., SMITH, P., & DAWSON, T. P. Impacts of land use, population, and climate change on global food security. **Food and Energy Security**, v. 10, n. 1, p. e261, 2021.
- MORTON, M. et al. Salt stress under the scalpel—dissecting the genetics of salt tolerance. **The Plant Journal**, v. 97, n. 1, p. 148-163, 2019.
- MUNIR, N. et al. Strategies in improving plant salinity resistance and use of salinity resistant plants for economic sustainability. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 52, n. 12, p. 2150-2196, 2022.
- NAGARAJU, Y., GUNDAPPAGOL, R. C., & MAHADEVASWAMY. Mining saline soils to manifest plant stress-alleviating halophilic bacteria. **Current Microbiology**, v. 77, p. 2265-2278, 2020.
- NITU, R., RAJINDER, K., & SUKHMINDERJIT, K. Zinc solubilizing bacteria to augment soil fertility—A comprehensive review. **Int. J. Agricult. Sci. Vet. Med**, v. 8, p. 38-44, 2020.
- NIU, S. et al. Dynamic carbon-nitrogen coupling under global change. **Science China Life Sciences**, v. 66, n. 4, p. 771-782, 2023.
- OLIVA, G. et al. Exploring the potential of four novel halotolerant bacterial strains as plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) under saline conditions. **Applied Sciences**, v. 13, n. 7, p. 4320, 2023.
- PANHWAR, Q. A. et al. Ameliorating plant salt stress through bacterial inoculation: Prospects and challenges. **Salt Stress, Microbes, and Plant Interactions: Mechanisms and Molecular Approaches: Volume 2**, p. 253-268, 2019.
- PANKIEVICZ, V. C.S. et al. Are we there yet? The long walk towards the development of efficient symbiotic associations between nitrogen-fixing bacteria and non-leguminous crops. **BMC biology**, v. 17, n. 1, p. 99, 2019.
- PARKER, D. R., REICHMAN, S. M., & CROWLEY, D. E. Metal chelation in the rhizosphere. **Roots and soil management: interactions between roots and the soil**, v. 48, p. 57-93, 2005.
- PASCALE, A. et al. Modulation of the root microbiome by plant molecules: the basis for targeted disease suppression and plant growth promotion. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 1741, 2020.
- PATTEN, C. L., BLAKNEY, A.J.C., & COULSON, T.J.D. Activity, distribution and function of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in bacteria. **Critical reviews in microbiology**, v. 39, n. 4, p. 395-415, 2013.

- PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 8, p. 3795-3801, 2002.
- PERREAULT, R.; LAFOREST-LAPOINTE, I. Plant-microbe interactions in the phyllosphere: facing challenges of the anthropocene. **The ISME journal**, v. 16, n. 2, p. 339-345, 2022.
- PINTO, A. L. et al. 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**, v. 61, p. 594-600, 2020.
- PIREDA, S. et al. Acclimatization capacity of leaf traits of species co-occurring in restinga and seasonal semideciduous forest ecosystems. **Environmental and Experimental Botany**, v. 164, p. 190-202, 2019.
- PIRHADI, M, et al. Screening of salt tolerant sugarcane endophytic bacteria with potassium and zinc for their solubilizing and antifungal activity. **Biosci. Biotechnol. Res. Commun**, v. 9, p. 530-538, 2016.
- PITMAN, M, G.; LÄUCHLI, A. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. **Salinity: environment-plants-molecules**, v. 3, p. 20, 2002.
- PRABHU, N., BORKAR, S., & GARG, S. Phosphate solubilization by microorganisms: overview, mechanisms, applications and advances. **Advances in biological science research**, p. 161-176, 2019.
- RABBI, M. F. et al. Food security challenges in Europe in the context of the prolonged Russian–Ukrainian conflict. *Sustainability*, v. 15, n. 6, p. 4745, 2023.
- RANAWAT, B. et al. Enterobacter hormaechei as plant growth-promoting bacteria for improvement in *Lycopersicon esculentum*. **Current microbiology**, v. 78, p. 1208-1217, 2021.
- RAYMOND, J. et al. The natural history of nitrogen fixation. **Molecular biology and evolution**, v. 21, n. 3, p. 541-554, 2004.
- REINHARD, C.T. et al. Evolution of the global phosphorus cycle. **Nature**, v. 541, n. 7637, p. 386-389, 2017.
- REJEB, I.; PASTOR, V., & MAUCH-MANI, B. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. **Plants** v. 3: 458–475. 2014.
- RENGASAMY, P. Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. **Functional Plant Biology**, v. 37, n. 7, p. 613-620, 2010.
- ROCHA, C. F. D. et al. The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, p. 263-273, 2007.

- RODRIGUES NETO, J. et al. O. Meio simples para isolamento oe cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. Citri. Tipo B. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 2, p. 16-16, 1986.
- ROSLAN, M. A. M. et al. Seed biopriming with P- and K-solubilizing *Enterobacter hormaechei* sp. improves the early vegetative growth and the P and K uptake of okra (*Abelmoschus esculentus*) seedling. **PloS one**, v. 15, n. 7, p. e0232860, 2020.
- ROYCHOWDHURY, R. et al. Isolation and characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* strain PGP for plant growth promotion. **Proceedings of the national academy of sciences, India section b: biological sciences**, v. 89, p. 353-360, 2019.
- SALAMA, R. B., OTTO, C. J., & FITZPATRICK, R. W. Contributions of groundwater conditions to soil and water salinization. **Hydrogeology Journal**, v. 7, p. 46-64, 1999.
- SALEEM, S. et al. Phytobeneficial and salt stress mitigating efficacy of IAA producing salt tolerant strains in *Gossypium hirsutum*. **Saudi journal of biological sciences**, v. 28, n. 9, p. 5317-5324, 2021.
- SARYANAH, N. A. et al. Salinity stress mitigation on *Zea mays* L. seedling by halotolerant bacteria. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. p. 012004, 2023.
- SASSE, J., MARTINOIA, E., & NORTHEN, T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? **Trends in plant science**, v. 23, n. 1, p. 25-41, 2018.
- SCARANO, F. R. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic rainforest. *Annals of Botany*, v. 90, n. 4, p. 517-524, 2002. SEEFELDT, Lance C. et al. Reduction of substrates by nitrogenases. **Chemical reviews**, v. 120, n. 12, p. 5082-5106, 2020.
- SEEFELDT, L. C. et al. Reduction of substrates by nitrogenases. **Chemical reviews**, v. 120, n. 12, p. 5082-5106, 2020.
- SETIAWATI, T. C. et al. Use of *Bacillus* as a plant growth-promoting rhizobacteria to improve phosphate and potassium availability in acidic and saline soils. **KnE life sciences**, p. 541–558-541–558, 2022.
- SHARMA, S. et al. A halotolerant growth promoting rhizobacteria triggers induced systemic resistance in plants and defends against fungal infection. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 4054, 2019.
- SHARMA, S. B. et al. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, p. 1-14, 2013.
- SHULTANA, R. et al. Effect of salt-tolerant bacterial inoculations on rice seedlings differing in salt-tolerance under saline soil conditions. **Agronomy**, v. 10, n. 7, p. 1030, 2020.
- SIGNORELL, A. et al. DescTools: Tools for descriptive statistics. R package version 0.99. 45. 2022.

- SINGH, A. Gestão da salinização do solo para o desenvolvimento sustentável: uma revisão. **Revista de gestão ambiental**, v. 277, p. 111383, 2021.
- SIQUEIRA, J. C. d. Amaranthaceae: padrões de distribuição geográfica e aspectos comparativos dos gêneros Africanos e Sulamericanos. **Pesquisas-Botânica**, v. 55, p. 177-185, 2004.
- SMEDEMA, L.K.; SHIATI, K. Irrigation and salinity: a perspective review of the salinity hazards of irrigation development in the arid zone. **Irrigation and drainage systems**, v. 16, n. 2, p. 161-174, 2002.
- SMIL, V. Enriching the earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the transformation of world food production. MIT press, 2004. SMIL, Vaclav. **Enriching the earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the transformation of world food production**. MIT press, 2004.
- SOFY, A. R. et al. Molecular characterization of the Alfalfa mosaic virus infecting *Solanum melongena* in Egypt and the control of its deleterious effects with melatonin and salicylic acid. **Plants**, v. 10, n. 3, p. 459, 2021.
- SOUMARE, A. et al. Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. **Plants**, v. 9, n. 8, p. 1011, 2020.
- SOUSSI, A. et al. Plant-associated microbiomes in arid lands: diversity, ecology and biotechnological potential. **Plant and Soil**, v. 405, p. 357-370, 2016.
- SPAEPEN, S., & VANDERLEYDEN, J. Auxin and plant-microbe interactions. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 3, n. 4, p. a001438, 2011.
- SULTAN, M.T., MAHMUD, U., & KHAN, M. Z. Addressing soil salinity for sustainable agriculture and food security: Innovations and challenges in coastal regions of Bangladesh. **Future Foods**, p. 100260, 2023.
- SUMPAVAPOL, P. et al. *Bacillus siamensis* sp. nov., isolated from salted crab (poo-khem) in Thailand. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 60, n. 10, p. 2364-2370, 2010.
- TORRES, M. et al. Growth promotion on horticultural crops and antifungal activity of *Bacillus velezensis* XT1. **Applied Soil Ecology**, v. 150, p. 103453, 2020.
- TRIVEDI, P. et al. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. **Nature reviews microbiology**, v. 18, n. 11, p. 607-621, 2020.
- TRUNG, Q. et al. Isolation of salt-tolerant *Pseudomonas* strains with potential for alleviation of salt stress in peanut plant (*Arachis hypogaea* L.). **Acta agriculturae Slovenica**, v. 118, n. 3, p. 1-9-1-9, 2022.
- TUKEY, J. W. The philosophy of multiple comparisons. **Statistical science**, p. 100-116, 1991.
- TUO, L; YAN, X; LIU, Y. *Aeromicrobium endophyticum* sp. nov., a novel endophytic actinobacterium isolated from bark of *Melia azedarach* L. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 1, p. 693-699, 2020.

- TURNER, T. R.; JAMES, E. K.; POOLE, P. S. The plant microbiome. **Genome biology**, v. 14, p. 1-10, 2013.
- VANDANA, U.K. et al. The endophytic microbiome as a hotspot of synergistic interactions, with prospects of plant growth promotion. **Biology**, v. 10, n. 2, p. 101, 2021.
- VORHOLT, J. A. Microbial life in the phyllosphere. **Nature reviews microbiology**, v. 10, n. 12, p. 828-840, 2012.
- VURUKONDA, S. S. K. P. *et al.* Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological research**, 2016.
- WALKER, T. S. et al. Root exudation and rhizosphere biology. **Plant physiology**, v. 132, n. 1, p. 44-51, 2003.
- WAN, W. et al. Isolation and characterization of phosphorus solubilizing bacteria with multiple phosphorus sources utilizing capability and their potential for lead immobilization in soil. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 752, 2020.
- WANG, H. et al. Pathogen biocontrol using plant growth-promoting bacteria (PGPR): Role of bacterial diversity. **Microorganisms**, v. 9, n. 9, p. 1988, 2021.
- WANG, W., GONG, Y., & XING, X. Groundwater evaporation for salt-affected soil under plastic film-covered cultivation condition: A review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 1229-1237, 2020.
- WANI, S.H. et al. Engineering salinity tolerance in plants: progress and prospects. **Plant**, v. 251, p. 1-29, 2020.
- WENG, L. et al. The zinc finger transcription factor SlZFP2 negatively regulates abscisic acid biosynthesis and fruit ripening in tomato. **Plant Physiology**, v. 167, n. 3, p. 931-949, 2015.
- HADLEY, G. Global textbooks in local contexts: An empirical investigation of effectiveness. In: **English language teaching textbooks: Content, consumption, production**. London. p. 205-238, 2014
- WILMOTH, J. et al. Global population growth and sustainable development. 2021.
- WU, T. et al. Characterization and initial application of endophytic *Bacillus safensis* strain ZY16 for improving phytoremediation of oil-contaminated saline soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 451791, 2019.
- XU, N. et al. Phyllosphere microorganisms: sources, drivers, and their interactions with plant hosts. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 70, n. 16, p. 4860-4870, 2022.
- XUE-SONG, L. et al. Evidence of The Presence of Bacteria Highly Resistant to beta-Lactam Antibiotics in Taklimakan Desert and Biochemical Characterization of *Paramesorhizobium deserti* gen. nov., sp nov. **PROGRESS IN BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS**, v. 42, n. 1, p. 56-+, 2015.

- YAN, N. et al. Influence of salinity and water content on soil microorganisms. **International soil and water conservation Research**, v. 3, n. 4, p. 316-323, 2015.
- YUE, Z. et al. Microbiological insights into the stress-alleviating property of an endophytic *Bacillus altitudinis* WR10 in wheat under low-phosphorus and high-salinity stresses. **Microorganisms**, v. 7, n. 11, p. 508, 2019.
- YUE, Z. et al. Phosphorus solubilizing *Bacillus altitudinis* WR10 alleviates wheat phosphorus deficiency via remodeling root system architecture, enhancing phosphorus availability, and activating the ASA-GSH cycle. **Plant and Soil**, v. 492, n. 1, p. 367-379, 2023.
- ZAMAN, M. et al. Soil salinity: Historical perspectives and a world overview of the problem. **Guideline for salinity assessment, mitigation and adaptation using nuclear and related techniques**, p. 43-53, 2018.
- ZHALNINA, Kateryna et al. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. **Nature microbiology**, v. 3, n. 4, p. 470-480, 2018.
- ZHANG, X. et al. Isolation, identification and characterization of nitrogen fixing endophytic bacteria and their effects on cassava production. **PeerJ**, v. 10, p. e12677, 2022.
- ZHANG, X; WARD, B. B.; SIGMAN, D. M. Global nitrogen cycle: critical enzymes, organisms, and processes for nitrogen budgets and dynamics. **Chemical reviews**, v. 120, n. 12, p. 5308-5351, 2020.
- ZHAO, G.-Y. et al. *Salinicola tamaricis* sp. nov., a heavy-metal-tolerant, endophytic bacterium isolated from the halophyte *Tamarix chinensis* Lour. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, n. 6, p. 1813-1819, 2017.