

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**DANILO RODRIGUES MONTEIRO**

**RIZOBACTÉRIAS DA CAATINGA: PROSPECÇÃO E PROMOÇÃO DE  
CRESCIMENTO DE SORGO EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE  
HÍDRICO**

**RECIFE**

**2021**



Danilo Rodrigues Monteiro

Engenheiro Agrícola

**RIZOBACTÉRIAS DA CAATINGA: PROSPECÇÃO E PROMOÇÃO DE  
CRESCIMENTO DE SORGO EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Giselle Gomes Monteiro Fracetto

**Recife**

**2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M775r

Monteiro, Danilo Rodrigues

RIZOBACTÉRIAS DA CAATINGA: PROSPECÇÃO E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE SORGO EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO / Danilo Rodrigues Monteiro. - 2021.  
139 f.

Orientador: Edivan Rodrigues de Souza.

Coorientadora: Giselle Gomes Monteiro Fracetto.

Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Recife, 2021.

1. Bactérias promotoras de crescimento. 2. Estresse abiótico. 3. Rizosfera. 4. Semiárido. I. Souza, Edivan Rodrigues de, orient. II. Fracetto, Giselle Gomes Monteiro, coorient. III. Título

CDD 631.4

DANILO RODRIGUES MONTEIRO

Rizobactérias da Caatinga: prospecção e promoção de crescimento de sorgo em condições de estresse hídrico

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência do Solo.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Orientador

---

Prof. Dr. Arthur Prudêncio de Araújo Pereira  
Universidade Federal do Ceará

---

Dra. Ana Dolores Santiago de Freiras  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Profa. Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Dr. Diogo Paes da Costa  
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco



*“Dizei não à guerra, mas dizei-o com flores”*

(O Menino do Dedo Verde - Maurice Druon)





## ***AGRADECIMENTOS***

---

---

Inicialmente, agradeço ao que tem me sustentado em todo o tempo e que me faz alguém melhor a cada dia. A Deus, entrego os méritos desse trabalho.

Aos meus pais, João Monteiro Filho (*in memorian*) e Jalbanete Rodrigues. Vocês foram e sempre serão meus grandes exemplos. Dias difíceis e saudosos compõem esse documento, mas os ensinamentos de vocês foram cruciais para que eu pudesse concluir tão árdua jornada. A vocês entrego, não apenas o meu agradecimento, mas também todo o meu amor.

Aos meus avós, Áurea Farias e Antônio Rodrigues (*in memorian*), João Monteiro (*in memorian*) e Maria das Dores (*in memorian*) pelos ensinamentos e amor a mim concedidos.

Aos meus familiares, de forma geral, por me ensinar sempre a insistir e perseverar em meus objetivos.

A Nathan Cirino que sempre foi uma peça integrante em tudo. Como diz uma canção “Só enquanto respirar, irei lembrar de você”.

Aos meus amigos campinenses (aqui representados por alguns nomes pois seria difícil listar todos) Priscilla Medeiros, Caio Braga, Rayssa Raquel por tudo que vocês representam para mim.

A minha amiga Marcela Costa e a minha tia de coração Fátima Costa por tudo que vocês representam para mim e por terem ficado por perto durante todos esses anos.

Aos meus amigos Cintia Lins, Hidelblandi Farias, Hugo Bentzen, Martha Katharinne, Pablo Dourado, Aglair Cardoso e Symone Falcão por terem sido minha família e meu suporte desde o mestrado até hoje.

Ao meu grupo de pesquisa SAP e a todos que este compõe por estarem sempre conectados e dispostos a ajudar, vislumbrando sempre o bem da produção científica e a excelência nos trabalhos desenvolvidos.

Aos amigos do PPG-Ciência do Solo, em especial a José Petrônio, Adriana Bezerra, Emanuelle Maria, Jaciane Rosa, Cíntia Gouveia, Cybelle Souza, Stella Carvalho, Marílya Gabryella, Nara Núbia, William Ramos, por toda a ajuda e carinho durante a minha pesquisa.

Aos meus mestres desde a minha alfabetização até os componentes da minha banca de Doutorado, cada um de vocês compuseram meu caráter científico e o desejo de espalhar a semente do saber pelos mais áridos terrenos.

A Edivan Rodrigues de Souza, Giselle Gomes Monteiro Fracetto e Felipe Cury Fracetto, por me auxiliarem nas orientações e por fazerem de todo esse processo mais colorido. A disponibilidade e dedicação de vocês para com a pesquisa e ensino serão para sempre guardados em meu coração. Obrigado por toda a empatia e solidariedade nos meus momentos difíceis.

A UFCG, por ter sido minha primeira casa científica. A UFRPE, em todas as suas instâncias pelo cuidado e suporte dispensado ao seu corpo discente.

O presente estudo foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001. A CAPES, agradeço.



## Rizobactérias da Caatinga: prospecção e promoção de crescimento de sorgo em condições de estresse hídrico

### RESUMO GERAL

A ampliação do conhecimento da comunidade microbiana na rizosfera de plantas estabelecidas em ambientes áridos e semiáridos contribuem para o desenvolvimento de tecnologias que auxiliam na tolerância de plantas à seca. Dessa forma, foi realizada a prospecção de rizobactérias de espécies endêmicas da Caatinga no Núcleo de Desertificação de Cabobró – PE, semiárido brasileiro, com a finalidade de encontrar bactérias que detivessem mecanismos de promoção de crescimento de plantas e então realizar a inoculação em sorgo. Para tanto, foram realizadas coletas do solo rizosférico de 5 espécies da Caatinga (*Cnidoscolus quercifolius*; *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz; *Aspidosperma pyriformis*; *Sida galheirensis*; *Jatropha curcas*) de dois sítios de coleta no semiárido de Pernambuco. O isolamento e a purificação das colônias de bactérias foram realizados em meio de cultura com restrição na atividade de água ( $A_w = 0,957$ ). Os isolados foram submetidos a caracterização de mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento e proteção a estresses ambientais, como: formação de biofilme; produção de exopolissacarídeos (EPS); solubilização de fosfatos; biossíntese de ácido indolacético (AIA); crescimento em meio enriquecido com ACC como única fonte de nitrogênio; fixação assimbiótica de nitrogênio (FBN); halofilia e halotolerância; produção de N-Amoniacal e produção de enzima extracelular (Catalase). De um total de 60 bactérias isoladas, as 20 BPCPs que apresentaram o maior número de mecanismos diretos ou indiretos foram selecionadas e inoculadas em plantas de Sorgo Forrageiro (IPA- SF – 15) submetidas a umidades do solo referentes a 80 % ( $0,202 \text{ g g}^{-1}$ ), 50 % ( $0,126 \text{ g g}^{-1}$ ) e 30 % ( $0,076 \text{ g g}^{-1}$ ) da capacidade de pote (CP). A partir disso foram avaliados os parâmetros de biometria das plantas, os pigmentos fotossintéticos e a fluorescência da clorofila a. As plantas inoculadas com as BPCPs tiveram um ganho de biomassa fresca de até 200% quando comparadas com os controles sem inoculação. A bactéria 1.4 aumentou em 75% a espessura do caule das plantas de sorgo, quando se comparou as plantas com a umidade de 30% da CP com as de 80% da CP. Os teores de clorofila a e clorofila total apresentaram os maiores acúmulos nas plantas inoculadas com as BPCPs 2.3 e 10.8. As plantas inoculadas com a bactéria 10.8 aumentou em 8 vezes os teores de carotenoides em comparação ao controle sem inoculação a 30% da CP. A emissão da fluorescência inicial da clorofila a foi menos intensa para a bactéria 7.2 (30% da CP), sendo aproximadamente 40% menor que a emissão pelas plantas a 80% da CP. Assim sendo, quanto a resposta ecofisiológica do *Sorghum bicolor* [L.] Moench observou-se que 11 bactérias (1.4, 1.10, 1.11, 2.3, 2.4, 4.2, 4.6, 6.1, 6.3, 7.2, 10.8) apresentaram grande relevância na melhora da homeostase das plantas em relação aos estímulos negativos do estresse ambiental ao qual estavam expostas. As espécies vegetais de onde foram prospectados os microrganismos xerófilos, apresentam grande potencial biotecnológico, por sustentarem uma comunidade microbiana com uma gama diversa de mecanismos de promoção de crescimento e alívio de estresse abiótico.

**Palavras-Chave:** Bactérias promotoras de crescimento. Estresse abiótico. Rizosfera. Semiárido



## **Rhizobacteria of Caatinga: prospecting and growth promoting in Sorghum under stress water**

### **GENERAL ABSTRACT**

The expansion and deepening of the knowledge of the microbial community in the rhizosphere of common plants in arid and semi-arid environments contributes to the development of technologies that assist in the tolerance of plants to drought. Thus, rhizobacteria of endemic species from the Caatinga were carried out in the Desertification Nucleus of Cabobró - PE, a Brazilian semiarid region, with the goal of finding bacteria that had mechanisms for promoting plant growth and then carry out an inoculation in sorghum. For this purpose, collections of rhizospheric soil were carried out from 5 species of the caatinga (*Cnidioscolus quercifolius*; *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz; *Aspidosperma pyriformis*; *Sida galheirensis*; *Jatropha curcas*) from two collection sites located in the semiarid region of Pernambuco. Isolation and purification of bacterial colonies were carried out in a culture medium with restriction in water activity ( $A_w = 0.957$ ). The isolated ones were subjected to the characterization of direct and indirect mechanisms to promote growth and protect against environmental stresses, such as: biofilm formation; production of exopolysaccharides; Phosphate solubilization; Biosynthesis of indolacetic acid (IAA); Growth in medium enriched with ACC as the only nitrogen source; asymbiotic nitrogen fixation (NFB); Halophilia and Halotolerance; Production of N-Ammoniacal and Production of extracellular enzyme (Catalase). From a total of 60 isolated, the 20 PGPBs that showed the greatest number of direct or indirect mechanisms were selected and inoculated in Forage Sorghum plants (IPA-SF - 15) and submitted to soil moisture referring to 80% (0.202 g g<sup>-1</sup>), 50% (0.126 g g<sup>-1</sup>) and 30% (0.076 g g<sup>-1</sup>) of the pot capacity (PC). From this, the biometric parameters of the plants, the photosynthetic pigments and the chlorophyll a fluorescence were evaluated. Plants inoculated with PGPBs had a fresh biomass gain of up to 200% when compared to controls without inoculation. The bacterium 1.4 increased the thickness of the stem of sorghum plants by 75%, when the plants were compared with the humidity of 30% of the PC with those of 80% of the PC. The levels of chlorophyll a and total chlorophyll showed the highest accumulations in plants inoculated with PGPBs 2.3 and 10.8. Plants inoculated with the bacterium 10.8 increased the levels of carotenoids by 8 times compared to the control without inoculation at 30% of PC. The initial fluorescence emission of chlorophyll a was less intense for bacterium 7.2 (30% of PC), being approximately 40% less than the emission by plants at 80% of PC. Therefore, it is observed that of the 20 PGPBs evaluated regarding the ecophysiological response of *Sorghum bicolor* [L.] Moench, 11 bacteria (1.4, 1.10, 1.11, 2.3, 2.4, 4.2, 4.6, 6.1, 6.3, 7.2, 10.8) presented great relevance in improving the homeostasis of plants in relation to the negative stimuli of environmental stress to which they were exposed. The plant species from which xerophilic microorganisms were prospected have great biotechnological potential, as they support a microbial community with a diverse range of mechanisms to promote growth and relieve abiotic stress.

**Keywords:** Growth-promoting bacteria. Abiotic stress. Rhizosphere. Semiarid.



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Perspectivas do solo quanto participante da zona crítica, seja na sua interação com as diversas esferas (Perspectiva ampla), seja na sua reatividade interna, no próprio complexo do solo (Perspectiva focal) (Adaptado de LIN, 2014)..... 30
- Figura 2.** Relação entre os tipos de estresses ambientais e os agentes estressores, gerando na interseção desses ativos e passivos uma região denominada de Zona Limítrofe do Estresse (ZLE) ..... 31
- Figura 3.** Relação de sensibilidade a temperatura para duas comunidades microbianas hipotéticas (NOTTINGHAM et al., 2018). ..... 32
- Figura 4.** Estabelecimento da relação simbiótica inter-reinos com a finalidade de mitigar os efeitos deletérios provocados pela seca ..... 38

### CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Mapa de localização do município de Belém de São Francisco – PE. Os pontos vermelhos apontam para os locais onde as plantas estavam estabelecidas ..... 59
- Figura 2.** Espécies da caatinga selecionadas para a prospecção de rizobactérias promotoras de crescimento ..... 61
- Figura 3.** Teste de coloração Gram em bactérias promotoras de crescimento isoladas da rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga ..... 65
- Figura 4.** Comparativo dos frascos contendo o controle sem inóculo e outro com inoculação com cepa bacteriana formadora de película, conforme marcação, evidenciando a possível potencialidade das bactérias em fixar nitrogênio de forma assimbiótica em meio semi-sólido livre de nitrogênio (NFb)..... 70
- Figura 5.** Formação das cores em gradiente de tonalidade, de acordo com a maior presença (micro tubo da esquerda - acastanhado) até a ausência (microtubo da direita - amarelo claro) de N-amoniacal..... 71
- Figura 6.** Teste da produção da enzima Catalase. A) Teste com resultado positivo devido a intensa efervescência de bolhas de gás. B) Teste com observação negativa devido a presença de bolhas de forma dispersa e em baixa quantidade ..... 72
- Figura 7.** Cluster construído com os isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies da Caatinga, a partir do agrupamento das estirpes que tiveram os mecanismos de promoção de crescimento mais similares..... 76
- Figura 8.** Média e desvio padrão do diâmetro de caule de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF - 15) inoculados com BPCPs e submetidas a estresse hídrico. (Letras minúsculas comparação entre os tratamentos com a inoculação das bactérias; Letras maiúsculas comparação entre os tratamentos com os níveis de umidade a que estava mantido o substrato das plantas. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott – Knott ( $p < 0,05$ ) ..... 84
- Figura 9.** Média e desvio padrão da altura de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF - 15) inoculados com BPCP's e submetidas a estresse hídrico. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott – Knott ( $p < 0,05$ ) ..... 85

<b>Figura 10.</b> Média e desvio padrão da massa do material vegetal fresco da parte aérea de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF - 15) inoculados com BPCP's e das plantas controle sem inoculação, submetidas a estresse hídrico. (As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott – Knott a 5% de probabilidade).....	86
<b>Figura 11.</b> Média e desvio padrão das médias da massa do material vegetal fresco da parte aérea de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF - 15) inoculados com BPCPs e das plantas controle sem inoculação, submetidas a estresse hídrico. (As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott – Knott a 5% de probabilidade).....	87

### CAPÍTULO 3

<b>Figura 1.</b> A) Valores médios dos teores dos pigmentos fotossintéticos Clorofila a (Chla); B) Valores médios da Clorofila total (Chltotal) em plantas de sorgo forrageiro (IPA - SF - 15) submetidas a estresse hídrico e inoculadas com BPCPs. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. *BPCP – Bactérias Promotoras de Crescimento.....	112
<b>Figura 2.</b> Valores médios das umidades a que foram submetidas as plantas de sorgo forrageiro (IPA - SF - 15) inoculadas com BPCPs. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade.....	113
<b>Figura 3.</b> Gráfico da análise dos componentes principais (ACP) da análise de teores de pigmentos fotossintetizantes em plantas de sorgo forrageiro (IPA SF 15) inoculados com cepas bacterianas promotoras de crescimento. (Chla a – Clorofila a; Chl b – Clorofila b; C(x+b) – Carotenoides; Rel Chla/Chlb – razão entre os teores de clorofila).....	116
<b>Figura 4.</b> Gráfico da análise dos componentes principais (ACP) da análise dos parâmetros de emissão da fluorescência da clorofila a em plantas de sorgo forrageiro (IPA SF 15) inoculados com cepas bacterianas promotoras de crescimento.....	120



## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

<b>Tabela 1.</b> Estudos de avaliação de mecanismos de promoção de crescimento de bactérias isoladas de planta estabelecidas em região semiárida .....	35
--	----

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1.</b> Coordenadas geográficas e altitude dos pontos de coleta do solo rizosférico .....	59
<b>Tabela 2.</b> Pluviometria média mensal e acumulada para o período correspondente aos meses de janeiro a dezembro de 2019 para o município de Belém de São Francisco - PE, dados da estação IBÓ - CHESF (APAC, 2021) .....	60
<b>Tabela 3.</b> Caracterização física do solo rizosférico por espécie da Caatinga do Núcleo de Desertificação de Cabrobó – PE.....	62
<b>Tabela 4.</b> Caracterização química do solo coletado na rizosfera de plantas da Caatinga do Núcleo de Desertificação de Cabrobó - PE .....	62
<b>Tabela 5.</b> Classificação da quantificação de ácido indolacético produzido por bactérias promotoras de crescimento (KAVAMURA et al., 2013).....	68
<b>Tabela 6.</b> Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento do isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga do Núcleo de desertificação de Cabrobó – PE.....	78

### CAPÍTULO 3

<b>Tabela 1.</b> Caracterização física do solo rizosférico por espécie da Caatinga do Núcleo de Desertificação de Cabrobó.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>Tabela 2.</b> Caracterização química do solo coletado na rizosfera de plantas da Caatinga do Núcleo de Desertificação de Cabrobó .....	105
<b>Tabela 3.</b> Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento do isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga do Núcleo de desertificação de Cabrobó – PE.....	107
<b>Tabela 4.</b> Média e desvio padrão da Clorofila b (Chlb) em plantas de sorgo forrageiro inoculadas com BPCP's e submetidos a estresse hídrico e que apresentaram interação significativa entre os fatores a 5% de probabilidade .....	114
<b>Tabela 5.</b> Média e desvio padrão da Carotenoides (C(x+b)) em plantas de sorgo forrageiro inoculadas com BPCP's e submetidos a estresse hídrico e que apresentaram interação significativa entre os fatores a 5% de probabilidade .....	115
<b>Tabela 6.</b> Médias e desvios padrão dos parâmetros da cinética da emissão da fluorescência inicial (F <sub>0</sub> ) que apresentou interação entre as bactérias e o estresse hídrico induzido a que as plantas de sorgo foram submetidas.....	117
<b>Tabela 7:</b> Médias e desvios padrão do parâmetro da fluorescência máxima (F <sub>m</sub> ), que apresentou interação entre as bactérias e o estresse hídrico induzido a que as plantas de sorgo foram submetidas.....	118



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>23</b>
<b>1.1 Hipóteses.....</b>	<b>25</b>
<b>1.2 Objetivos.....</b>	<b>26</b>

### CAPÍTULO 1

<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>28</b>
--------------------------------------	-----------

2.1 Aspectos gerais .....	28
2.2 Estresses ambientais e sua interação com microrganismos edáficos.....	29
2.3 Mecanismos de adaptabilidade e resistência do microbioma edáfico aos estresses ambientais .....	34
2.4 Rizosfera: <i>hotspot</i> de alta complexidade para a tríade solo-planta-microrganismos	39
2.5 Relação solo-planta e a resposta ecofisiológica aos estresses abióticos.....	40
2.6 Construção de cenários futuros para a observação da interface crítica do microcosmo edáfico .....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	43

### CAPÍTULO 2

<b>PROSPECÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS EM SOLO RIZOSFÉRICO DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO E INOCULAÇÃO EM <i>Sorghum bicolor</i> [L.] MOECH EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO .....</b>	<b>53</b>
--	-----------

RESUMO.....	54
ABSTRACT.....	55
3.1 INTRODUÇÃO .....	56
3.2.1 Caracterização da área de coleta do solo rizosférico de plantas estabelecidas no Semiárido .....	58
3.2.2 Caracterização Química e Física do solo rizosférico coletado.....	62
3.2.3 Isolamento e purificação dos microrganismos promotores de crescimento.....	63
3.2.4 Teste da Coloração Gram.....	64
3.2.5 Caracterização dos mecanismos de promoção de crescimento das bactérias ..	66
3.2.6 Seleção dos isolados para o teste de promoção de crescimento em <i>Sorghum bicolor</i> [L.] Moech .....	72
3.2.7 Delineamento experimental e análise estatística.....	74
3.3 RESULTADOS .....	74

3.3.1	Contagem das UFC's prospectadas em solo rizosférico de espécies da Caatinga.	74
3.3.2	Caracterização morfofisiológica dos isolados bacterianos.....	74
3.3.3	Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento em bactérias xerófilas.....	77
3.3.4	Promoção de crescimento em <i>Sorghum Bicolor</i> [L.] Moech submetido a estresse hídrico.....	82
3.4	DISCUSSÃO .....	87
3.4.1	UFC's prospectadas em solo rizosférico de espécies endêmicas da caatinga...	87
3.4.2	Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento em bactérias xerófilas.....	88
3.4.3	Promoção de crescimento em <i>Sorghum bicolor</i> [L.] Moech submetido a estresse hídric.....	89
3.5	CONCLUSÕES .....	92
	REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO .....	93

### CAPÍTULO 3

#### **FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM SORGO INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS CULTIVADO SOB ESTRESSE HÍDRICO..... 99**

	RESUMO.....	100
	ABSTRACT.....	101
4.1	INTRODUÇÃO .....	102
4.2	MATERIAL E MÉTODOS .....	104
4.2.1	Caracterização da área de coleta do solo rizosférico e espécies endêmicas da Caatinga.....	104
4.2.2	Isolamento e purificação das bactérias promotores de crescimento.....	105
4.2.3	Inoculação das BPCPs em <i>Sorghum bicolor</i> L. Moech. submetido à estresse hídrico.....	107
4.2.4	Condução do experimento e manejo de irrigação e nutricional das plantas de Sorgo (IPA SF 15).....	109
4.2.4.1	Avaliação dos parâmetros fisiológicos .....	110
4.2.4.2	Delineamento experimental e análise estatística .....	110
4.3	RESULTADOS .....	111
4.3.1	Pigmentos fotossintéticos em <i>Sorghum bicolor</i> [L.] Moech submetidos a estresse hídrico inoculados com BPCPs .....	111
4.3.2	Emissão da fluorescência da <i>Chla</i> em sorgo forrageiro (IPA – SF 15) sob estresse hídrico e inoculado com bacterias promotoras de crescimento.....	116

4.4 DISCUSSÃO .....	121
4.4.1 Pigmentos fotossintéticos em <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench submetidos a estresse hídrico inoculados com BPCP's.....	121
4.4.2 Emissão da fluorescência da Chla em sorgo forrageiro (IPA – SF 15) sob estresse hídrico e inoculado com bactérias promotoras de crescimento. ....	123
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	126
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	131



## 1 INTRODUÇÃO GERAL

---

---

O planeta Terra vem passando por inúmeras alterações nos últimos séculos, grande parte delas atribuídas às ações antrópicas. Elevação nos níveis dos oceanos, aumento da incidência dos raios ultravioleta, derretimento das calotas polares, períodos de estiagem mais intensos, esses são alguns dos exemplos dos efeitos negativos que tem sobrecarregado o equilíbrio do nosso ecossistema, provocando estresses em plantas e animais.

Desde a década de 60 se discute a sustentabilidade da produção agrícola, como alternativa a produção secular que contribui com a aceleração desses efeitos ambientais danosos. O homem do campo e os cientistas se uniram em uma força tarefa para fomentar metodologias e formas de produzir mais e com maior cuidado com a preservação do meio ambiente. Assim, os estudos com biotecnologia foram se intensificando e cada vez mais se pautando em novas tecnologias para que a agricultura se torne mais conservacionista.

A prospecção de microrganismos é uma prática antiga, na qual, a partir das propriedades e mecanismos que esses seres possuem são produzidos medicamentos, vacinas, substância sintéticas, inoculantes e uma infinidade de materiais biológicos que fazem com que o dia-a-dia dos seres humanos sejam melhores.

Devido ao aumento da demanda agrícola e à necessidade de práticas sustentáveis no mundo rural, a prospecção de microrganismos em ambientes extremos e o entendimento desse genoma específico e adaptado a condições restritivas foi a solução para esse binômio. A observação do ambiente da Antártida, desde as geleiras até o solo, área na circunvizinhança de vulcões, até a investigação da zona radicular de forma mais intrínseca, foram os terrenos desbravados.

Em se tratando de solo e rizosfera, percebeu-se o quão intenso são os fenômenos que ocorrem através do microcosmo criado nessa região. Na interface crítica existente entre a pedosfera e a biosfera observa-se um grande conglomerado de reações e de substâncias sinalizadoras frente a distúrbios no ambiente. Diante disso, os estudos se intensificaram e dali surgiu a fonte genômica para a melhora plantas e organismos que tenham que estar submetidos a estresses abióticos ou bióticos.

Um desses estresses é a seca, que provoca distúrbios ecofisiológicos que podem ser de proporções fatais as algumas espécies de plantas. No planeta temos que cerca de 40% das áreas tem como característica climática a aridez.

Ao se observar a paisagem dessas áreas encontramos diversas plantas estabelecidas, embora as condições ambientais sejam desfavoráveis. Mas o que ocorre para que exista essa resistência? Seria apenas as estruturas anatômicas e a fisiologia desses vegetais que induziriam isso? A resposta para essas questões é não.

O ambiente edáfico dessas áreas áridas e semiáridas possui um considerável aporte microbiológico, devido a elevada diversidade e abundância dos microrganismos que habitam esses ecossistemas. Contribuindo assim com o estabelecimento de relações simbióticas para a manutenção da homeostase da planta.

No Brasil, a região semiárida se localiza no recobrimento de toda a região Nordeste e abriga dois biomas característicos o Cerrado e a Caatinga. O bioma Caatinga, possui uma extensão territorial que corresponde a 14% da Unidade Federativa. Conhecido pela sua rica biodiversidade, apresenta uma característica peculiar que é a baixa pluviometria, alta evapotranspiração, temperaturas elevadas e áreas bastante susceptíveis a degradação. Por se tratar de uma área de bastante incidência de longos períodos de estiagem, a vegetação é bastante adaptada a esse ambiente.

Além de possuírem mecanismos de resistência ao estresse hídrico, as plantas endêmicas da Caatinga possuem a contribuição de diversos microrganismos que habitam o solo. Essa microbiota apresenta vários mecanismos de indução de resistência sistêmica, como por exemplo: a produção de exopolissacarídeos, a formação de biofilme, a síntese de fitohormônios, atividade enzimática antioxidante, antibiose a fitopatógenos, entre outros.

Quando isolados, purificados e inoculados em cultivares agrícolas comerciais, esses microrganismos conferem à planta que recebeu os inóculos o aumento da adaptabilidade a estresses abióticos e bióticos, pois induz uma resposta sistêmica de tolerância ecofisiológica. Esses microrganismos passam a ser chamados de promotores de crescimento, pois irão agir favorecendo o desenvolvimento do vegetal, preservando as membranas e estruturas celulares, além de aliviarem o estresse através da clivagem de substâncias reativas.

As respostas ecofisiológicas das plantas inoculadas perpassam pelo acúmulo de solutos orgânicos intracelulares como forma de redução no potencial osmótico e ajuste para que



melhore a absorção de água pela planta, biossíntese de auxinas para contribuição com o crescimento e desenvolvimento, aumento da glutaniona e redução do etileno como alternativa a proteção contra a atuação de espécies reativas de oxigênio, preservação do aparato fotossintético, principalmente da membranas dos tilacoides para que haja a dissipação de energia na forma de calor e aumento da produção e acúmulo dos pigmentos fotossintéticos.

Contudo, ainda é necessário o desbravamento de muitos questionamentos referente a prospecção e uso de microrganismos promotores de crescimento. O entendimento de como acontece o estabelecimento da relação planta-microrganismo para os mais diversos tipos de genótipos agrícolas, compreensão da comunidade microbiana e os estresses ambientais aos quais estão expostas, resposta ecofisiológica das plantas a inoculação com esses promotores de crescimento, entre outros.

Dessa forma, esse trabalho pretende avaliar e discutir a prospecção de bactérias promotoras de crescimento, observando os mecanismos que essas bactérias possuem até a resposta fisiológica de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF-15) expostas a estresse hídrico. Para tanto essa tese foi composta por 2 capítulos, que são:

1 – Prospecção de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas em espécies endêmicas da Caatinga no Semiárido brasileiro e inoculação de *Sorghum bicolor* [L.] Moech em condições de estresse hídrico;

2 - Fluorescência da clorofila a e pigmentos fotossintéticos em sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moech) inoculadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas submetidas a estresse hídrico.

## 1.1 Hipóteses

- a. Plantas da Caatinga abrigam rizobactérias capazes de crescer em baixa atividade de água;
- b. A seca contribui para a indução de uma resistência sistêmica na comunidade microbiana do solo rizosférico de espécies endêmicas de ambiente semiáridos;
- c. A síntese de fitohormônios, atividade da enzima ACC deaminase, formação de biofilmes, solubilização de fosfatos, antibiose a fitopatógenos e a presença de enzimas extracelulares, auxiliam no crescimento e desenvolvimento das plantas de sorgo

- submetidas a estresse hídrico, pois reduz os efeitos nocivos de espécies químicas inibidoras de crescimento e degradadoras de membranas de organelas citoplasmáticas;
- d. A umidade do solo interfere diretamente no desenvolvimento das plantas de sorgo, assim como também na microbiota rizosférica. Evidenciando, que a interação entre os microrganismos e plantas, amplia a tolerância aos distúrbios provocados pelo estresse hídrico.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo Geral**

Prospectar rizobactérias promotoras de crescimento de plantas em espécies da Caatinga e avaliar o potencial dessas bactérias em promover o desenvolvimento do sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* [L.] Moech) sob estresse hídrico.

### **1.2.2 Objetivos Específicos**

- a. Isolar bactérias da rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga em meio com atividade de água reduzida;
- b. Caracterizar os mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento das rizobactérias prospectadas em espécies estabelecidas em ambiente semiárido;
- c. Analisar os parâmetros biométricos de plantas de sorgo forrageiro submetidas a estresse hídrico;
- d. Verificar a cinética da fotossíntese e estimar os teores de pigmentos fotossintéticos de plantas de *Sorghum bicolor* [L.] Moech inoculadas com BPCPs e submetidas a estresse hídrico.

## **CAPÍTULO I**

---

---

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Aspectos gerais

Microbioma pode ser entendido como a relação estabelecida entre o indivíduo que hospeda o microrganismo e o ambiente a sua volta, excluindo quaisquer passividades de ambos (GERBER, 2014), pois existe interferência (direta ou indireta) da ação da microbiota na resposta as patologias (MENDES; GARBEVA; RAAIJMAKERS, 2013; MEHMOOD et al., 2020), aumento da adaptabilidade das espécies animais ou vegetais aos estresses ambientais a que se submetem (NAVEED et al., 2014; SHIRIVASTAVA; KUMAR, 2015; KONG et al., 2019), dentre outras.

Assim como os seres humanos que são equiparados a superorganismos por possuírem um complexo interativo com um segundo genoma, as plantas também podem ser equiparadas a essa definição devido a irrestrita presença de microrganismos participantes do metabolismo (MENDES; GARBEVA; RAAIJMAKERS, 2013). A interação simbiótica entre planta e microrganismos edáficos vai desde o auxílio no crescimento e desenvolvimento do vegetal até a produção de fotoassimilados e fonte energética para o microbioma (VORHOLT, 2012; MENDES; GARBEVA; RAAIJMAKERS, 2013; MUELLER; SANCHS, 2015). A maioria das interações entre solo e microrganismos ocorre a nível de sistema radicular, em uma faixa estreita denominada rizosfera. Essa região é um *hotspot* de (micro) organismos, considerado o ecossistema mais complexo da Terra (MOMMER et al., 2016).

Estudos multidisciplinares abordam a importância da rizosfera para a sustentação dos vegetais, pois os microrganismos participam de diversos processos biogeoquímicos, como a aquisição de nutrientes (ORTIZ-CASTRO; VALENCIA-CANTERO; LÓPEZ-BUCIO, 2013), ciclagem de nutrientes (KAVAMURA et al., 2013), absorção de água (CURÁ et al., 2017) e sinalização da rizosfera (VAN DAM; BOUWHEESTER, 2016).

Nesse sentido, com o aumento populacional do planeta Terra e elevação da demanda por alimentos, tem-se problematizado a cada dia como se pode ampliar as fronteiras agrícolas com um menor impacto e sem o uso excessivo de insumos. Acredita-se que a relação entre as espécies vegetais e os microrganismos edáficos são a chave para compreender este processo, principalmente com o ambiente em constante alteração devido as intervenções antrópicas.

O aquecimento global, a desertificação, a salinização de áreas agricultáveis, a supressão vegetal, entre outras, são ações que modificam o ambiente e provocam o estresse dos

organismos que ali habitam, sendo importante quantificá-los e qualificá-los para que assim sejam traçadas estratégias de mitigação, recuperação ou compensação.

## **2.2 Estresses ambientais e sua interação com microrganismos edáficos**

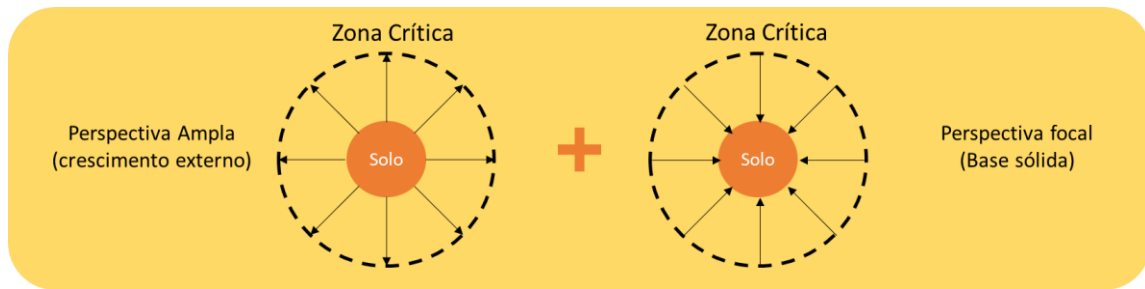
A ecologia tem por objetivo avaliar as relações existentes entre o meio ambiente e aqueles que o habita, levando em consideração a distribuição e abundância dos organismos, sejam elas pautadas nas diversidades biológicas, genéticas e/ou funcionais (VERMA, 2018). Essa sinergia pode ser testável e individualizada a partir de análises estatísticas, levando em consideração a complexidade e interatividade de cada evento ecológico (MENEZES et al., 2016).

Com base na conceituação supracitada, pode-se vislumbrar os fatores ambientais, quer seja no tempo ou no espaço, como desestabilizadores dos organismos e/ou dos processos ecossistêmicos, refletindo em um severo metamorfismo que provocará o estresse no ambiente anteriormente equilibrado (FREEDMAN, 2015).

Assim, faz-se necessário uma visão holística do ecossistema. Tal como propõem Lin (2014) e Bockheim e Gennadyiev (2010), que sugerem a observação da Terra como a grande sinfonia das esferas apresentando em seu centro uma zona crítica.

Esse local de intensa atividade de relações e reações, pode ser definido como um ambiente heterogêneo com complexas interações, que regulam e determinam a disponibilidade dos recursos naturais sustentadores da vida (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001). Baseados nessa visão, a Pedosfera (Solo) passa a ser considerada o maestro e o centro dessa zona (LIN, 2014).

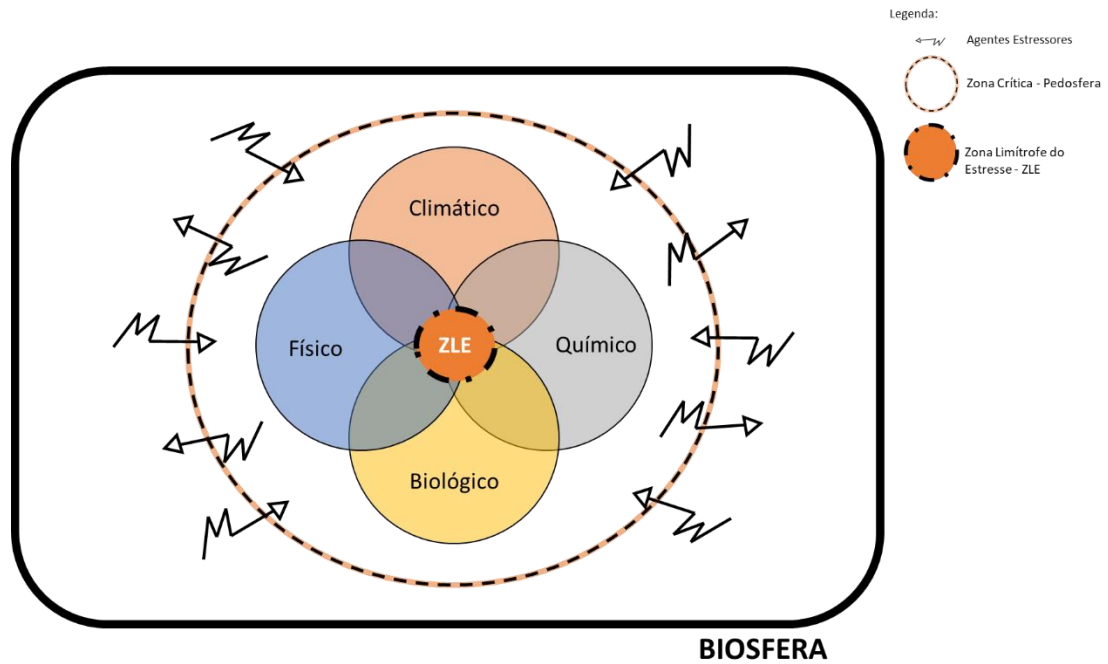
Para uma melhor compreensão é preciso estabelecer que o solo é considerado um sistema trifásico, dinâmico, composto por camada(s) de material mineral e/ou orgânico geralmente dispostos livres, sendo afetados por processos físicos, químicos e biológicos, capaz de dar suporte a organismos animais e vegetais (VAN ES, 2017). Sendo assim, a Pedosfera se posiciona como uma região de interseção entre as reações, tornando-se uma importante fonte de material biogeoquímico (Figura 1).



**Figura 1.** Perspectivas do solo quanto participante da zona crítica, seja na sua interação com as diversas esferas (Perspectiva ampla), seja na sua reatividade interna, no próprio complexo do solo (Perspectiva focal) (Adaptado de LIN, 2014)

No âmbito biológico, o solo carrega em si uma grande biblioteca genômica, armazenando aproximadamente 10 trilhões de genes por grama de solo. Diante disso, uma pergunta pode ser realizada: “Com tamanha riqueza e abundância genética, não é possível afirmar que existem outras camadas dentro dessa zona crítica (Pedosfera)? A resposta a tal indagação é sim. Essa camada intermediária ou limítrofe se encontra nos ambientes extremos e/ou estressados, que podem ser caracterizados pelo seu desequilíbrio e desordem. Segundo Freedman (2015), os estresses podem ser observados a partir do âmbito climático, químico, físico e biológico.

Os estresses ambientais em atuação, por diversas vezes, estão em interseção, originando uma zona limítrofe do estresse (ZLE) (Figura 2). Esta é uma região altamente complexa, pois depende da adaptabilidade dos organismos aos agentes estressores, como temperatura, clima, patógenos, salinidade, supressão vegetal, queimadas, entre outros. No entanto, para que haja o mínimo de sustentação da vida nesses lugares, organismos atenuadores/mitigadores de estresse agem, dando origem a essa zona limítrofe.



**Figura 2.** Relação entre os tipos de estresses ambientais e os agentes estressores, gerando na interseção desses ativos e passivos uma região denominada de Zona Limítrofe do Estresse (ZLE)

Os microrganismos e as plantas são os maiores representantes naturais utilizados na atenuação ao estresse ambiental, sendo que o primeiro, devido sua riqueza genômica, pode ser considerado o principal componente da ZLE.

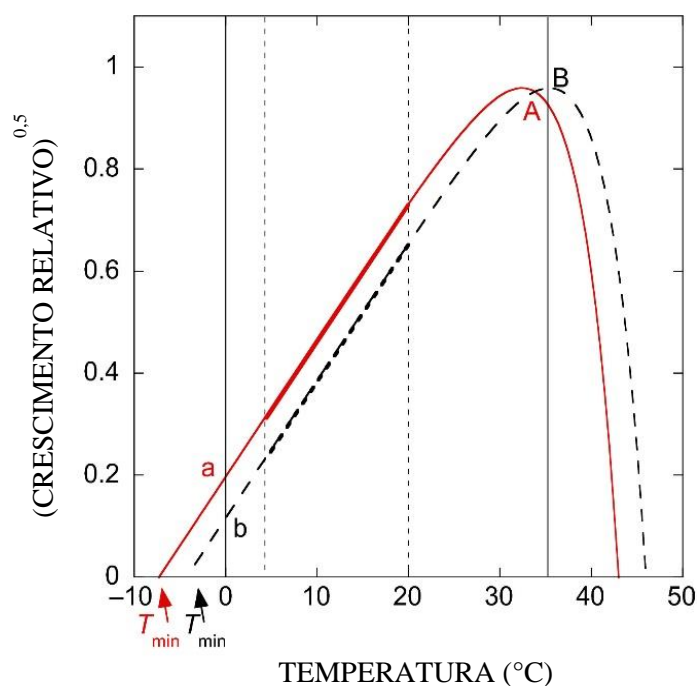
O que se tem observado ao longo do tempo, é o aumento no nível da degradação ambiental, pois desde a revolução verde, iniciada na década de 1960, o desenvolvimento de tecnologia no setor agrícola elencou a produtividade (ORTIZ-CASTRO; VALENCIA-CANTERO; LÓPEZ-BUCIO, 2013). Entretanto, esse aumento estimulou o uso de insumos o que encareceu bastante a produção, além de trazer distúrbios ao meio-ambiente (ZHANG et al., 2012; CAPORAL, 2016).

A dinamicidade do microbioma tem sido desafiador à comunidade científica, pois a diversidade de microrganismos no sistema radicular das plantas é correlacionada com a melhora na aptidão potencial do vegetal, estabilizando-os quando submetidos a ambientes perturbados (MENDES; GARBEVA; RAAIJMAKERS, 2013; KONG et al., 2019; MEHMOOD et al., 2020). A desestabilização dessas áreas pode ser proveniente de ações naturais ou antrópicas. Contudo, a desordem provocada por agentes estressores de origem natural torna-se um evento corriqueiro no contexto ambiental e ecossistêmico, diferentemente das intervenções antrópicas

sobre o ambiente que provocam reflexos maiores e mais intensos em paisagens equilibradas (FREEDMAN, 2015; XIE et al., 2020).

Temperatura, ação de fitopatógenos, contaminações por hidrocarbonetos de petróleo, metais pesados, aumento dos sais solúveis no solo e diminuição da água disponível no solo são exemplos de estressores ambientais.

Os efeitos diretos da temperatura e precipitação provocam desordens na comunidade edáfica, principalmente na diversidade de microrganismos (WHITAKER et al., 2014). A faixa de temperatura ideal para crescimento e desenvolvimento da comunidade microbiana encontra-se entre 25 °C e 30 °C (Figura 3) (PIETIKÄINEN; PETTERSSON; BÅÅTH, 2005) e que uma elevação de 2 °C, em uma faixa de 6 °C a 26 °C, provoca o aumento da atividade microbiana edáfica entre 28 % a 15%, respectivamente (NOTTINGHAM et al., 2018).



**Figura 3.** Relação de sensibilidade a temperatura para duas comunidades microbianas hipotéticas (NOTTINGHAM et al., 2018).

De forma global, com o aumento da temperatura da Terra, o fenômeno de derretimento das geleiras e dos *permafrost* será corriqueiro, modificando a comunidade microbiana edáfica pela intensidade de alagamento dos solos. Microrganismos anaeróbicos serão beneficiados, principalmente metanogênicos (produção de CH<sub>4</sub>) (KNOBLAUCH et al., 2018). Tal processo, contribuirá ainda mais para as alterações climáticas globais (CAVICCHIOLI et al., 2019). Voříšková; Elberling; Priemé (2019) verificaram essa intensidade na mudança dos microrganismos do solo em zona de *permafrost* descontínua, com temperatura média de -3°C e



concluíram que tanto fungos quanto procariotos sofreram reduções devido as mudanças de temperatura.

Sendo assim, o impacto da elevação ou redução da temperatura afeta diretamente a comunidade microbiana e conseqüentemente a ciclagem de nutrientes, principalmente o carbono do solo (KNOBLAUCH et al., 2018; NOTTINGHAM et al., 2018).

Além de alterações na temperatura, as mudanças climáticas globais têm influenciado e impactado o regime de precipitação, ampliando cada vez mais áreas susceptíveis a seca e a salinidade, que em conjunto com as ações antrópicas pontuais aceleram processos de degradação ambiental, como a desertificação e erosão do solo. Tais fatores reduzem consideravelmente o potencial produtivo de áreas agricultáveis (UNCCD, 2009).

Aproximadamente 40% da superfície da Terra é afetada pela aridez, podendo até 2050 atingir cerca de 5 bilhões de pessoas (UNCCD; FAO, 2020). De forma sucinta é necessário recapitular que o status hídrico no ambiente pode ser descrito de duas formas: i) conteúdo de água no solo; e ii) o potencial hídrico do solo, que está atrelado a energia livre com que essa água se encontra no solo (YAN et al., 2015).

Quanto mais baixo o potencial de água do solo, maior será a exigência por parte do metabolismo microbiano repercutindo no processo de mineralização da matéria orgânica (PAUL et al., 2003; SLEUTEL et al., 2008; SORENSEN; GERMINO; FERIS, 2013). Esse controle na decomposição da matéria orgânica, provoca uma intensa pressão negativa sobre os processos biológicos do solo, ocasionando a redução e/ou a inibição da atividade microbiana, devido à baixa disponibilidade de substratos orgânicos (MGANGA et al., 2019). Além disso, a restrição hídrica eleva a concentração de sais no solo, e conseqüente interferência na atividade enzimática, composição da comunidade e atividades gerais de bactérias e fungos, fatos correlacionados com o acúmulo intracelular de solutos orgânicos e eletrólitos, vias para redução do potencial intracelular e assim conseguir absorver água (TECOR; OR, 2017).

É importante salientar que embora haja baixa disponibilidade de água em regiões áridas e semiáridas do planeta Terra, inúmeras espécies vegetais conseguem resistir bravamente devido a arquitetura da rizosfera pela intensa atividade simbiótica associada com mecanismos fisiológicos das plantas (KAVAMURA et al., 2013; ARAÚJO et al., 2020). O rizodepósito é formado pela descamação celular radicular, acúmulo de exsudatos hidrossolúveis e géis orgânicos (mucigel), que contribuem com a aderência do solo ao sistema radicular, construindo um microcosmos essencial para a resposta adaptativa da comunidade microbiana e da planta ao estresse hídrico (NAYLOR; COLEMAN-DERR, 2017; MGANGA et al., 2019). Entretanto, mesmo o microcosmo possuindo tamanha influência na estrutura e atividade da comunidade

microbiana, ainda ocorre uma dependência com as medidas macroscópicas do estado energético da água no solo (conteúdo volumétrico, saturação dos poros ou capacidade de retenção) (GHEZZEHEI et al., 2019).

### **2.3 Mecanismos de adaptabilidade e resistência do microbioma edáfico aos estresses ambientais**

Acredita-se que a comunidade microbiana sofre alterações com os regimes de umedecimento e secagem do solo, onde durante o período chuvoso, os microrganismos antes em estado de dormência se tornem ativos metabolicamente falando, permitindo que as unidades se transportem através do fluxo da estação chuvosa pelo perfil do solo (BARNARD; OSBORNE; FIRESTONE, 2014). Isto é, uma determinada comunidade quando submetida a estresses recorrentes desenvolvem um tipo de memória ambiental, fazendo com que as respostas sejam evidentes a cada evento histórico estressante (CANARI et al., 2019). No entanto, geralmente em ambientes extremos, as plantas estão mais susceptíveis aos efeitos deletérios provocados pelos agentes estressores, demonstrando-os através de sintomas ecomorfofisiológicos.

A avaliação da relação planta-microrganismo-ambiente pode ser realizada a nível molecular, quando a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) torna-se elevada, devido a intensidade do estresse ambiental ao qual a espécie vegetal foi exposta. Nesse interim, uma cascata de moduladores hormonais é ativada e sinaliza a comunidade microbiana que se encontra em simbiose com a planta, ativando diversos mecanismos de alívio do estresse (Tabela 1), ou seja, estabelecem uma relação simbiótica para manutenção das suas atividades metabólicas normais, em geral a partir ácidos orgânicos e fitohormônios (auxinas, citocinas e giberilinas) (VACHERON et al., 2013; SUKUMAR et al., 2013).

**Tabela 1.** Estudos de avaliação de mecanismos de promoção de crescimento de bactérias isoladas de planta estabelecidas em região semiárida

<b>Autores</b>	<b>Localização</b>	<b>Planta hospedeira</b>	<b>Região de Prospecção</b>	<b>MPCP observados</b>
EGAMBERDIYEVA, 2005	Semiárido Uzbesquistão	– <i>Gossypium L.</i> ; <i>Triticum</i> ; <i>Medicago sativa</i> ; <i>Solanum lycopersicum</i>	Raízes	Atividade enzimática (Oxidase, Catalase, Pectinase, Celulase e Urease); Produção de AIA; Halotolerância; Atividade antifúngica
HYNES et al., 2008	Canadá	<i>Lens esculenta</i> ; <i>Pisum sativum</i> ; <i>Cicer arietinum</i>	Raízes	Produção de AIA, sideróforos; Atividade da ACC deaminase; Antibiose a fitopatógenos
MINAXI et al., 2012	Semiárido – Índia	<i>Vigna radiata</i>	Rizosfera	Solubilização de fosfatos; Atividade da ACC deaminase; Atividade antifúngica; Produção de Amônia e AIA.
HUMAIRA et al., 2013	Semiárido Paquistão	– <i>Zea Mays</i>	Rizosfera	Produção da Oxidase e Catalase; Produção de sideróforos; Atividade da Bacteriocina; solubilização de fosfatos

MPCP – Mecanismos Promotores de Crescimento de Plantas

(Continua)

**Tabela 1:** Estudos de avaliação de mecanismos de promoção de crescimento de bactérias isoladas de planta estabelecidas em região semiárida.

(Conclusão)

<b>Autores</b>	<b>Localização</b>	<b>Planta hospedeira</b>	<b>Região de Prospecção</b>	<b>MPCP observados</b>
KAVAMURA et al., 2013	Semiárido – Brasil	<i>Cereus jacamaru</i>	Rizosfera	Produção de Celulose, EPS; formação de biofilme; Produção de HCN; Solubilização de fosfatos; Produção de AIA; Atividade da ACC deaminase
FERNANDES – JÚNIOR et al., 2015	Semiárido – Brasil	<i>Tripogon spicatos</i>	Rizosfera	Produção de AIA; Solubilização de fosfatos; Halotolerância; Resistência intrínseca a antibióticos
NIU et al., 2018	Semiárido- China	<i>Setaria italica</i> L.	Raízes	Atividade da ACC deaminase
ANTUNES et al., 2019	Semiárido – Brasil	<i>Cenchrus ciliaries</i> ; <i>Sorghum bicolor</i> ; <i>Cynodon spp</i>	Raízes	Produção de AIA e Sideróforos; Solubilização de fosfatos e fixação de nitrogênio
ARAÚJO et al., 2020	Semiárido – Brasil	<i>Mimosa bimucronata</i>	Rizosfera	Produção de EPS; formação de biofilme; Atividade da nitrogenase; Solubilização de fosfatos; Produção de AIA; Atividade da ACC deaminase
MUKHTAR et al., 2020	Paquistão	<i>Solanum lycopersicum</i>	Rizosfera	Produção de EPS, HCN, NH <sub>3</sub> , sideróforos; Solubilização de fosfatos; Produção de AIA; Enzimas extracelulares (Protease, Amilase e Catalase); Atividade da ACC deaminase

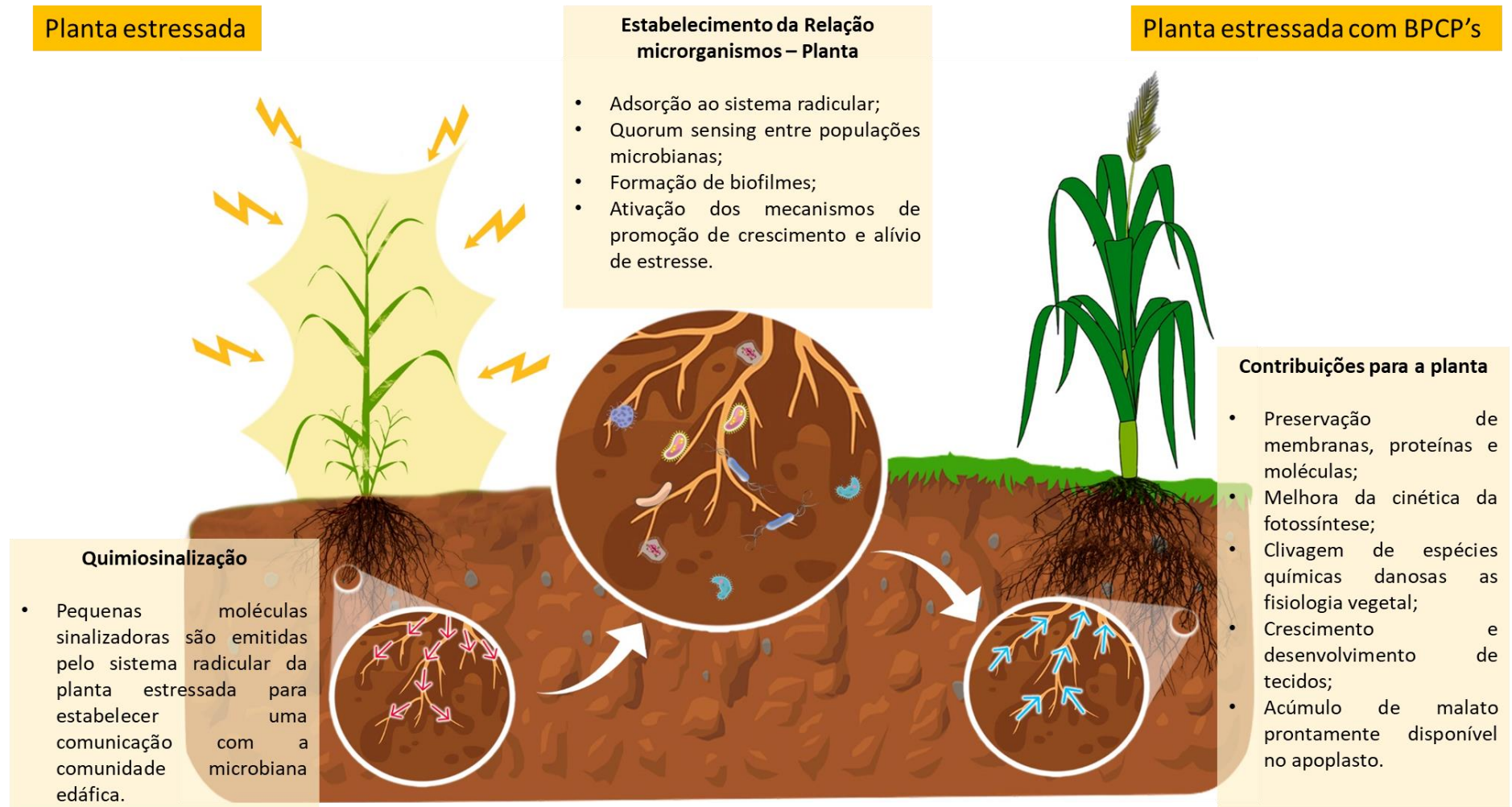
MPCP – Mecanismos Promotores de Crescimento de Plantas

Em determinadas plantas, a associação com rizobactérias promotoras de crescimento podem ampliar a absorção de fosfatos, produção de ácido indolilacético (AIA), sideróforos e fosfatases (RIBEIRO; CARDOSO, 2012; AMNA et al., 2019). O aumento na absorção de fosfatos pode ser observado em microrganismos membros da família *Entrobacteriaceae*, por exemplo (KAVAMURA et al., 2013). Os ânions fosfato, estão diretamente ligados a produção de exopolissacarídeos pelos microrganismos (YI et al., 2008), onde esses produtos têm a capacidade de se ligar a íons, como o cálcio, e assim disponibilizar o fósforo para a solução do solo, diminuindo os efeitos deletérios de restrição desse elemento para as plantas. Há vários relatos sobre solubilização de fosfato exibida por uma variedade de espécies: *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp. (AHMAD; AHMAD ; KHAN, 2008; OLIVEIRA et al., 2009).

Os exopolissacarídeos (EPS) também trazem uma contribuição, principalmente em condições estressantes, pois protegem o crescimento celular impedindo que os fatores causadores dos distúrbios possam agir e interferir na homeostase morfo-fisiológica das células, auxiliando diretamente na sobrevivência aos fatores limitantes do ambiente (KAVAMURA et al., 2013; SILAMBARASAN et al., 2018; AMNA et al., 2019).

Em condições de seca severa, as BPCPs contribuem com a produção de uma substância denominada trealose, que é um composto molecular biologicamente ativo que auxilia na quebra da tensão osmótica provocada pelo estresse hídrico (KHAN et al., 2016). As plantas submetidas ao estresse hídrico podem recrutar as bactérias halofílicas presentes no solo, que irão trabalhar em duas estratégias com a finalidade de reduzir o potencial osmótico, contribuindo a absorção de água. Uma delas é através de sistemas antiportes de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  ou bomba de  $\text{Na}^+$  ativadas pela respiração, e a segunda é a partir do acúmulo intracelular de osmólitos compatíveis, como ácidos orgânicos de baixo peso molecular, aminoácidos e carboidratos (OREN et al., 2008; BEBLO-VRANESEVIC et al., 2017).

O funcionamento do recrutamento de BPCP's pela planta que estão sob atuação do estresse hídrico estão sumarizados na Figura 4. Os microrganismos se utilizam de vários mecanismos para estimular o alívio da seca.



**Figura 4.** Estabelecimento da relação simbiótica inter-reinos com a finalidade de mitigar os efeitos deletérios provocados pela seca

## 2.4 Rizosfera: *hotspot* de alta complexidade para a tríade solo-planta-microrganismos

A rizosfera circunda toda a raiz e é composta por três zonas: o solo, o rizoplane e a própria raiz (TAHAT et al., 2020). A área compreendida por essa região de intensa atividade microbiológica vai de 2mm a 10 mm do rizoplane, porém na existência de relação simbiótica entre planta e fungos micorrízicos essa área se amplia para além da zona de depleção da superfície do sistema radicular da planta (PÚSCHEL et al., 2020).

De todo o aporte de carbono produzido pelas plantas, uma fração entre 10 a 40% é depositado no solo do sistema radicular (BAIS et al., 2006), formando um local específico e estimulante para a atividade microbiana que se encontra próximo as raízes das plantas. Em ambiente com algum tipo de restrição, seja água, excesso de sais solúveis, fitopatógenos, a planta estabelecida nesse solo tende a modular genes capazes de produzir uma gama de moléculas orgânicas capazes de sinalizar a comunidade microbiana do solo a necessidade de auxílio para romper as barreiras impostas pelo ambiente.

A sinalização na rizosfera pode ser dividida em quatro categorias: entre plantas, entre microrganismos, plantas e microrganismos, e de microrganismos para plantas (VAN DAM; BOUWMEESTER, 2016, VENTURI; KEEL, 2016). Como exemplo da comunicação intraespécies de microrganismos tem-se o *quorum sensing* (QS) e o *quorum quenching* (QQ). O QS sincroniza os comportamentos da população bacteriana, não limitando a produção de compostos derivados do seu metabolismo, apenas otimiza o crescimento e resistência em diferentes ambientes. Já o QQ é conhecido por controlar o QS através da atividade de degradação dos sinais enzimáticos (HAO TAN et al., 2015).

A comunicação existente entre plantas e microrganismos existe por meio de exsudatos radiculares, em geral formado por metabólitos primários e secundários (açúcares, ácidos orgânicos, hormônios entre outros) (VAN DAM; BOUWMEESTER, 2016). Além dos fitohormônios produzidos, que atuam também na sinalização, outras moléculas são importantes, como por exemplo, o etileno que em condições estressantes, a sua via é fortemente ativada. Sendo assim, bactérias que produzem a ACC desaminase, também conhecidas como bactérias  $\text{AcdS}^+$ , são capazes de reduzir os perfis voláteis induzidos pelo estresse, protegendo a planta danos provocados pelo estresse oxidativo (MATSUOKA et al., 2016; MOMMER et al., 2016).

Os microrganismos se comunicam com as plantas através das auxinas, que são amplamente produzidos por bactérias e contribuem com o desenvolvimento radicular e promovem o crescimento (SPAEPEN; VANDERLEYDEN; REMANS, 2007; ORTIZ-CASTRO; VALENCIA-CANTERO; LÓPEZ-BUCIO, 2013). O estímulo enviado pelas plantas

para a biossíntese das auxinas, como o ácido indol-3-ácetico (AIA) através de exsudatos, como o triptofano e flavonoides (ORTIZ-CASTRO; VALENCIA-CANTERO; LÓPEZ-BUCIO, 2013).

Até o momento, os estudos desenvolvidos envolvendo metabolômica, nos diferentes sistemas de interação também denominados de zonas críticas, entre microrganismos e plantas ampliam os horizontes de que muitas espécies utilizem rotas de comunicação (sinalização) como estratégia de interagir e assim, possibilitar ao vegetal uma melhor adaptabilidade a ambientes expostos a agentes que provoquem distúrbios morfo-fisiológicos (agentes estressantes) ou com restrição de nutrientes.

## **2.5 Relação solo-planta e a resposta ecofisiológica aos estresses abióticos**

Ao se imaginar um ambiente semiárido, correlacionamos logo com pouca disponibilidade de água e quase nenhuma vida. Entretanto, essa construção virtual é um pouco controversa, pois o solo dessas regiões comporta uma infinidade de microrganismos resistentes a restrição hídrica, a salinidade e a temperatura (KAVAMURA et al., 2013; ALHAITHLOUL et al., 2019; ARAÚJO et al., 2020). Esses habitantes contribuem com a vegetação, concedendo-lhes mecanismos alternativos de tolerância aos estresses abióticos, formando um genoma acessório e eficaz.

O estresse ambiental é caracterizado por ser um evento de longo período de tempo, que traz mudanças a nível do solo (restrição hídrica e acúmulo de sais solúveis) como nas plantas devido as alterações em processos fisiológicos e na estrutura morfológica (LOMBARDINI; ROSSI, 2019). Algumas alterações bioquímicas podem ser destacadas: afetar o *status* hídrico da planta (MELO et al., 2020), redução na taxa fotossintética, acúmulo de osmólitos compatíveis (PAULINO et al., 2020), síntese do ácido abscísico (ABA) e do etileno (FRACETTO et al., 2017).

Ao serem expostos a ambientes com condições restritivas ou estressantes, os organismos de forma geral buscam a sua adaptação. Plantas e microrganismos possuem uma relação nesse panorama, que é a síntese de algumas moléculas, como é o caso da ACC. Com a intensidade do estresse, hormônios como o etileno tem sua produção aumentada e espécies reativas iniciam seu processo de formação. Tais mudanças provocam a inibição do crescimento vegetal, deformação de estruturas das organelas, degradação das membranas, peroxidação de lipídeos, entre outros (SHIMOKAUA et al., 1978; PAULINO et al., 2020).



O aparato fotossintético é formado por organelas e caso haja a deterioração das membranas delas as enzimas do ciclo ascorbato - glutaniona (AsA-GSH) que participam na desintoxicação celular das ERO's, acabam tendo sua atividade reduzida (IQBAL et al., 2017; FATMA et al., 2021). Diante disso a atividade da enzima ACC desaminase, se torna de fundamental importância, pois ela age clivando o etileno em  $\alpha$ -cetobutirato e amônia e aumenta os níveis de glutaniona, protegendo assim as células vegetais do efeito agressivo do estresse oxidativo, provocado pelos estresses abióticos (MUKHTAR et al., 2020).

A privação hídrica, temperatura elevada, excesso de sais solúveis no solo, interferem em outros parâmetros da fisiologia vegetal, além do aparato fotossintético (SHELDON et al., 2017). O teor relativo de água nas folhas, a condutância estomática, eficiência do uso da água, eficiência carboxilativa da Rubisco são diretamente afetados pelos estresses ambientais (MONTEIRO et al., 2018; LINS et al., 2018; PAULINO et al., 2020).

## **2.6 Construção de cenários futuros para a observação da interface crítica do microcosmo edáfico**

Apesar de serem conceitos com caracterizações diferentes, a saúde do solo e a qualidade do sistema edáfico caminham interligados. A saúde do solo pode ser compreendida como uma característica intrínseca (TAHAT et al., 2020), onde a dinamicidade do solo irá predizer a sua vitalidade dentro do ecossistema e dos limites de uso da terra para uma produção sustentável, preservando e melhorando a qualidade de vida animal e vegetal (DORAN, 2002). Já a qualidade do solo é caracterizada como extrínseca pois é a capacidade de funcionamento de um tipo específico de solo, dentro dos limites delimitados pelo homem (KARLEN et al., 1997; TAHAT et al., 2020).

Entretanto, projeções indicam que o mundo alcance a marca de 10,9 bilhões de pessoas até 2100 (ONU, 2015). Tal aumento populacional irá exercer uma pressão negativa sobre o meio ambiente, exigindo cada vez mais o aumento de fronteiras agrícolas, produtos manufaturados, emissão de gases, se não for tomado ciência da necessidade de mudança de práticas do cotidiano desde o atual momento.

Acredita-se que aproximadamente 107,7 Pg de solo é perdido apenas pelo processo de erosão no planeta todos os anos (BORRELLI et al., 2017). A salinidade aumenta seu potencial de dano ao solo de regiões agrícolas em cerca de 40% ao ano (QADIR et al., 2014). O último

relatório da ONU (2015) sobre as condições dos solos no mundo apontou para o agravamento do problema da degradação desse recurso, onde foi evidenciado que a maioria dos recursos do solo encontram-se em condições razoáveis, ruins ou péssimas.

Dessa forma, estudos científicos que contribuam para a melhoria e manutenção de um ambiente edáfico equilibrado, para que consiga sustentar a vida de forma mais eficaz é extremamente importante. A observação de forma holística para a mitigação de estresse é uma alternativa, pois as diversas esferas que compõe o planeta Terra têm influência direta uma sobre as outras.

Assim avaliar a multiômica no cosmos radicular é de fundamental interesse para planejamentos de cenários futuros em estudos que envolvam a rizosfera, isto é, para se obter uma conclusão mais detalhada sobre o comportamento da microbiota no solo rizosférico deve envolver metodologias que se pautam no uso de tecnologias ômicas de alto rendimento (BAKKER et al., 2020). DNA, RNA, proteínas e metabólitos do microbioma edáfico influenciam o crescimento e tolerância das plantas à estresses bióticos e abióticos (RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019).

Como as plantas não podem acessar regiões diferentes por serem sésseis, a microbiota é que é responsável por realizar essa mobilização pelas circunvizinhanças próximas. Vale salientar que a observação das linhagens de microrganismos de diversas plantas, sejam de diferentes genótipos ou espécies, é extremamente importante para aumentar o nível de certeza e grau de similaridade em softwares que comparam o genoma dessas cepas prospectadas, seja no solo rizosférico, seja no solo adjacente as raízes.

O estresse oxidativo é um estresse secundário e corriqueiro em ambientes áridos e semiáridos. Dessa forma, a inserção de genes que codifiquem a produção de enzimas que diminuam o efeito tóxico nas plantas é uma solução prudente e viável. Por exemplo, a enzima ACC deaminase regulada pelo gene *Acds* bacteriano, teve suas observações contempladas de forma mais enfática após o desenvolvimento de plantas com o gene *ACCD* (GUNJAN; SHARMISTA, 2018).

Plantas estabelecidas em ambientes extremos possui uma resistência natural aos eventos danosos que possam intervir na sua fixação nas áreas, assim são as plantas que compõe a paisagem do semiárido, principalmente as do bioma da Caatinga. Correspondente a 11% do território brasileiro (QUEIROZ et al., 2017), a Caatinga é reconhecida pelo seu potencial resiliente e resistente as interpéries ambientais. Em média o índice pluviométrico da região

chega a próximo de 600 mm e com uma evapotranspiração média de 2.100 mm, provocando um déficit no balanço hídrico (JACOMINE et al., 1973).

A família *Fabaceae* é uma das mais abundantes da Caatinga, correspondendo a aproximadamente 300 espécies endêmicas (SILVA et al., 2019). Espécies como a *Jatropha curcas* e a *Ceasalpinia pyramidalis* são amplamente estudadas com a finalidade de produtos industriais (CAVALCANTI et al., 2017; SILVA et al., 2015). No entanto diversas outras espécies que compõe esse rico ecossistema têm sido negligenciadas, como é o caso da *Sida galheirensis*, *Aspidosperma pyriformium* e da *Cnidioscolus quercifolius*.

A tolerância a seca é um processo biológico apresentado em 0,2% das plantas vasculares (BONATELLI et al., 2021), e várias delas podemos encontrar no bioma da Caatinga, como é o caso das espécies endêmicas supracitadas. Isso mostra o potencial biotecnológico existente nesse bioma e o quanto é importante o detalhamento genômico da microbiota das espécies nele estabelecidas. De posse desse mapeamento, podemos entender como funciona o nosso ecossistema edáfico e assim traçar rotas e metas visando a saúde do solo, bem-estar humano e melhoria da produção agrícola.

Dessa forma, podemos compreender que o uso da biotecnologia é extremamente relevante e fará com que cada vez mais se produzam tecnologias e ferramentas mais precisas e específicas com base no genoma de cada indivíduo, seja animal ou vegetal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES GR, SANTANA SRA, ESCOBAR IEC ET AL. SILVA BRASIL, M. DA, DE ARAÚJO, G. G. L., VOLTOLINI, T. V., FERNANDES-JÚNIOR, P. I. Associative diazotrophic bacteria from forage grasses in the Brazilian semiarid region are effective plant growth promoters. **Crop Pasture Science**, v. 70, p. 899–907, 2019. <doi.org/10.1071/CP19076>

AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M.S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research**, Alemanha, v. 163, n. 2, p. 173-181, 2008. <doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001>

ALHAITHLOUL, H. A., SOLIMAN, M. H., AMETA, K. L., EL-ESAWI, M. A., ELKELISH, A. Changes in ecophysiology, osmolytes, and secondary metabolites of the medicinal plants of *Mentha piperita* and *Catharanthus roseus* subjected to drought and heat stress. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 43, 2020. <doi.org/10.3390/biom10010043>

AMNA, B. U. D., SARFRAZ, Y. X. S., KAMRAN, M. A., JAVED, M. T., SULTAN, T., MUNIS, M. F. H., CHAUDHARY, H. J. Mechanistic elucidation of germination potential and growth of wheat inoculated with exopolysaccharide and ACC- deaminase producing *Bacillus* strains under induced salinity stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 183, p. 109466, 2019. <doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109466>

ARAÚJO, V. L. V. P., JUNIOR, M. A. L., DE SOUZA JÚNIOR, V. S., DE ARAÚJO FILHO, J. C., FRACETTO, F. J. C., ANDREOTE, F. D., FRACETTO, G. G. M. Bacteria from tropical semiarid temporary ponds promote maize growth under hydric stress. **Microbiological Research**, v. 240, p. 126564, 2020. <doi.org/10.1016/j.micres.2020.126564>

BAIS, H. P., WEIR, T. L., PERRY, L. G., GILROY, S., VIVANCO, J. M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 233-266, 2006. <doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>

BAKKER, P. A., BERENDSEN, R. L., VAN PELT, J. A., VISMANS, G., YU, K., LI, E., BENTUM, S. V., POPELIERS, S.W.M., GIL, J. J. S., ZHANG, H., GOOSSENS, P., STRIMGLIS, L.S., SONG, Y., JONGE, R. de, PIETERSE, C. M. The soil-borne identity and microbiome-assisted agriculture: looking back to the future. **Molecular Plant**, v. 13, n. 10, p. 1394-1401, 2020. <doi.org/10.1016/j.molp.2020.09.017>

BARNARD R. L.; OSBORNE C. A.; FIRESTONE, M. K. Changing precipitation pattern alters soil microbial community response to wet-up under a Mediterranean-type climate. **The ISME Journal**, v. 9, n. 4, p. 946-957, 2015. <doi.org/10.1038/ismej.2014.192>

BEBLO-VRANESEVIC, K., GALINSKI, E. A., RACHEL, R., HUBER, H., RETTBERG, P. Influence of osmotic stress on desiccation and irradiation tolerance of (hyper)-thermophilic microorganisms. **Archives of microbiology**, v. 199, n. 1, p. 17-28, 2017. <doi.org/10.1007/s00203-016-1269-6>

BISSETT, A., BROWN, M. V., SICILIANO, S. D., THRALL, P. H. Microbial community responses to anthropogenically induced environmental change: towards a systems approach. **Ecology Letters**, v. 16, p. 128-139, 2013. <doi.org/10.1111/ele.12109>

BOCKHEIM, J. G.; GENNADIYEV, A. N. Soil-factorial models and earth-system science: A review. **Geoderma**, v. 159, n. 3-4, p. 243-251, 2010. doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.09.005

BONATELLI, M. L., VIEIRA LACERDA JÚNIOR, G., BUENO DOS REIS JÚNIOR, F., FERNANDES-JÚNIOR, P. I., SOARES MELO, I., QUECINE, M. C. The beneficial plant-associated microorganisms from semi-arid and seasonally dry environments: a review. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 3331, 2020. <doi.org/10.3389/fmicb.2020.553223>

BORRELLI, P., ROBINSON, D. A., FLEISCHER, L. R., LUGATO, E., BALLABIO, C., ALEWELL, C., PANAGOS, P. An assessment of the global impact of 21st century land use change on soil erosion. **Nature communications**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2017. <doi.org/10.1038/s41467-017-02142-7>

CANARINI, A., KAISER, C., MERCHANT, A., RICHTER, A., WANEK, W. Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 157, 2019. <doi.org/10.3389/fpls.2019.00157>

CAPORAL, F. R. Poderá a Agroecologia responder aos cinco axiomas da sustentabilidade? **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 4, p. 390-402, 2016. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/20668>. Acesso em: 03 abril. 2020

CAVALCANTI, R. M. F., ORNELA, P. D. O., JORGE, J. A., GUIMARÃES, L. H. S. Screening, selection and optimization of the culture conditions for tannase production by endophytic fungi isolated from Caatinga. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 5, n. 01, p. 001-009, 2017. <doi.org/10.7324/JABB.2017.50101>

CAVICCHIOLI, R., RIPPLE, W. J., TIMMIS, K. N., AZAM, F., BAKKEN, L. R., BAYLIS, M., BEHRENFELD, M.J., BOETIUS, A., DANOVARO, R., FOREMAN, C. M., HUISMAN, J., HUTCHINS, D. A., JANSSON, J. B.H., KARL, D. M., KOSKELLLA, B., MARK WELCH, D. B., MARTINY, J. B.H., MORAN, M. A., ORPHAN, V. J., REAY, D. S., REMAINS, J. V. RICH, V. I., SINGH, B. K., STEIN, L. Y., STWART, F. J., SULLIVAN, M. B., VAN OPPEN, M.J.H., WEAVER, S. C., WEBB, E. A., WEBSTER, N. S. Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 9, p. 569-586, 2019. <doi.org/10.1038/s41579-019-0222-5>

CHOWDCHURRI, S.R.; BASAK, R.K.; SEM, R.; ADHIKARI, B. Production of extracellular polysaccharide by *Bacillus megaterium* RB-05 using jute as substrate **Bioresource Technology**, Oxford, v. 102, n. 11, p. 6629-6632, 2011. <doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.099>

CURÁ, J.A.; FRANZ, D.R.; FILOSOFÍA, J. E.; BALESTRASSE, K.B.; BURGEÑO, L. E. Inoculation with *Azospirillum sp.* and *Herbaspirillum sp.* Bacteria Increases the Tolerance of Maize to Drought Stress. **Microorganisms**, v. 5, n. 3, p. 41, 2017. <doi.org/10.3390/microorganisms5030041>

DORAN, J. W. Soil health and global sustainability: translating science into practice. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 88, n. 2, p. 119-127, 2002. <doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00246-8>

EGAMBERDIYEVA, D. Plant-growth-promoting rhizobacteria isolated from a Calcisol in a semi-arid region of Uzbekistan: biochemical characterization and effectiveness. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 168, n. 1, p. 94-99, 2005. <doi.org/10.1002/jpln.200321283>

FAO; ITPS. Status of the World's Soil Resources (SWSR) – Main Report. **Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils**, Rome, Italy. 2015.

FATMA, M., IQBAL, N., GAUTAM, H., SEHAR, Z., SOFO, A., D'IPPOLITO, I., KHAN, N. A. Ethylene and Sulfur Coordinately Modulate the Antioxidant System and ABA Accumulation in Mustard Plants under Salt Stress. **Plants**, v. 10, n. 1, p. 180, 2021. <doi.org/10.3390/plants10010180>

FERNANDES-JÚNIOR, P. I., AIDAR, S. D. T., MORGANTE, C. V., GAVA, C. A. T., ZILLI, J. É., SOUZA, L. S. B. D., MARINHO, R. de C. N., NÓBREGA, R. S. A., BRASIL, M. da S., SEIDO, S. L., MARTINS, L. M. V. The resurrection plant *Tripogon spicatus* (Poaceae) harbors a diversity of plant growth promoting bacteria in northeastern Brazilian Caatinga. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 4, p. 993-1002, 2015. <doi.org/10.1590/01000683rbc20140646>

FREEDMAN, B. Ecological effects of environmental stressors. In: **Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science**. 2015. <doi.org/10.1093/acrefore/9780199389414.013.1>

GERBER, G. K. The dynamic microbiome. **FEBS letters**, Heidelberg, v. 588, n. 22, p. 4131-4139, 2014. <doi.org/10.1016/j.febslet.2014.02.037>

GHEZZEHEI, T. A., SULMAN, B., ARNOLD, C. L., BOGIE, N. A., BERHE, A. A. On the role of soil water retention characteristic on aerobic microbial respiration. **Biogeosciences**, v. 16, n. 6, p. 1187-1209, 2019. <doi.org/10.5194/bg-16-1187-2019>

GSP. *Global Soil Partnership Endorses Guidelines on Sustainable Soil Management*. FAO (2016). Disponível em <www.fao.org/global-soil-partnership/resources/hilights/detail/en/c/416516/> Acesso: 09 de dezembro de 2020.

GUNJAN, G.; SHARMISTA, B. Synergistic interaction of pgpb acds and acdr genes: the plant strategy to cope up with biotic and abiotic stressors. **Indian Journal of Plant Sciences** ISSN 2319: 3824.

HAO TAN, C.; SHYANG KOH, K.; XIE1, C.; ZHANG J.; HUI TAN, X.; LEE, G. P.; ZHOU, Y.; JERN N.G.W.; RICEL, S. A.; KJELLEBERG, S. Community quorum sensing signalling and quenching: microbial granular biofilm assembly. **Npj Biofilms and Microbiomes**, v. 1, 9 p., 2015. <doi.org/10.1038/npjbiofilms.2015.6>

HUMAIRA, Y., ASGHARI, B. Screening of PGPR isolates from semi-arid region and their implication to alleviate drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 45, n. Suppl. 1, p. 51-58, 2013.

HYNES, R. K., LEUNG, G. C., HIRKALA, D. L., NELSON, L. M. Isolation, selection, and characterization of beneficial rhizobacteria from pea, lentil, and chickpea grown in western Canada. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 4, p. 248-258, 2008 <doi.org/10.1139/W08-008>

IQBAL, N.; KHAN, N.A.; FERRANTE, A.; TRIVELLINI, A.; FRANCINI, A.; KHAN, M.I.R. Ethylene role in plant growth, development and senescence: Interaction with other phytohormones. **Frontiers in plant science**, v.8, p.475, 2017. <doi.org/10.3389/fpls.2017.00475>

JACOMINE, P. K. T.; CAVALCANTI, A. C.; BURGOS, N.; PESSOA, S. C. P.; SILVEIRA, C. O. da. Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do estado de Pernambuco. SUDENE-DRN; Brasília, DF: Divisão de Pesquisa Pedológica, 1973. 359p.

KHAN, A. L., WAQAS, M., ASAF, S., KAMRAN, M., SHAHZAD, R., BILAL, S., KHAN A., KANG, S., KIM Y., YUN, B., AL-RAWAHI A., ALHARRASI, A., LEE, I. J. Plant growth-promoting endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 alleviates salinity stress in *Solanum pimpinellifolium*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 133, p. 58-69, 2017. <doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.09.009>

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. S. da; PARMA, M. M.; ÁVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, T.D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. de. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, Jena, v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013. <doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002>

KARLEN, D. L., MAUSBACH, M. J., DORAN, J. W., CLINE, R. G., HARRIS, R. F., SCHUMAN, G. E. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). **Soil Science Society of America Journal**, v. 61, n. 1, p. 4-10, 1997. <doi.org/10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x>

KNOBLAUCH, C., BEER, C., LIEBNER, S., GRIGORIEV, M. N., PFEIFFER, E. M. Methane production as key to the greenhouse gas budget of thawing permafrost. **Nature Climate Change**, v. 8, n. 4, p. 309-312, 2018. <doi.org/10.1038/s41558-018-0095-z>

KONG, Z., WU, Z., GLICK, B. R., HE, S., HUANG, C., WU, L. Co-occurrence patterns of microbial communities affected by inoculants of plant growth-promoting bacteria during phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 183, p. 109504, 2019. <doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109504>

LIN, H. A new worldview of soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 78, n. 6, p. 1831-1844, 2014. <doi.org/10.2136/sssaj2014.04.0162>

LINS, C. M. T., DE SOUZA, E. R., DE MELO, H. F., PAULINO, M. K. S. S., DOURADO, P. R. M., DE CARVALHO LEAL, L. Y., SANTOS, H. R. B. Pressure-volume (PV) curves in *Atriplex nummularia* Lindl. for evaluation of osmotic adjustment and water status under saline conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 124, p. 155-159, 2018. <doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.014>

LOMBARDINI, Leonardo; ROSSI, Lorenzo. Ecophysiology of plants in dry environments. In: **Dryland ecohydrology**. Springer, Cham, p. 71-100. 2019. <doi.org/10.1007/978-3-030-23269-6\_4>

MATSUOKA, H.; OHWAKI, Y.; TERAKADO-TONOOKA, J.; TANAKA, F. Changes in volatiles in carrots inoculated with ACC deaminase-producing bacteria isolated from organic crops. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 407, n. 1-2, p. 173-186, 2016. <doi.org/10.1007/s11104-015-2769-x>

MEHMOOD, M. A., ZHAO, H., CHENG, J., XIE, J., JIANG, D., FU, Y. Sclerotia of a phytopathogenic fungus restrict microbial diversity and improve soil health by suppressing other pathogens and enriching beneficial microorganisms. **Journal of environmental management**, v. 259, p. 109857, 2020. <doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109857>

MELO, H. F. D., SOUZA, E. R. D., DOURADO, P. R. M., LINS, C. M. T., SANTOS, H. R. B., MONTEIRO, D. R., PAULINO, M. K. S. S., ALMEIDA, B. G. de, SANTOS, M. A. D. Comparison of water and osmotic potentials on *Vigna unguiculata* stress response. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 44, 2020. <doi.org/10.36783/18069657rbcS20200070>

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 634-663, 2013. <doi.org/10.1111/1574-6976.12028>

MENEZES, A. B. DE, PRENDERGAST-MILLER, M. T., RICHARDSON, A. E., TOSCAS, P., FARRELL, M., MACDONALD, L. M., THRALL, P. H. Network analysis reveals that bacteria and fungi form modules that correlate independently with soil parameters. **Environmental microbiology**, v. 17, n. 8, p. 2677-2689, 2015. <doi.org/10.1111/1462-2920.12559>

MGANGA, K. Z., RAZAVI, B. S., SANALLAH, M., KUZYAKOV, Y. Phenological stage, plant biomass, and drought stress affect microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of *Enteropogon macrostachyus*. **Pedosphere**, v. 29, n. 2, p. 259-265, 2019. <doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60799-X>

MINAXI, L. N., YADAV, R.C. SAXENA, J. Characterization of multifaceted *Bacillus* sp. RM-2 for its use as plant growth promoting bioinoculant for crops grown in semi arid deserts. **Applied soil ecology**, v. 59, p. 124-135, 2012. <doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.08.001>

MONTEIRO, D. R., MELO, H. F. D., LINS, C. M., DOURADO, P. R., SANTOS, H. R., SOUZA, E. R. D. Chlorophyll a fluorescence in saccharine sorghum irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 10, p. 673-678, 2018. <doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n10p673-678>

MOMMER, L.; HINSIGNER, P.; PRIGENT-COMBARET, C.; VISSER, E. J. W. Advances in the rhizosphere: stretching the interface of life. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 408, p. 1-8. 2016. <doi.org/10.1007/s11104-016-3040-9>

MOURA, R. B., JÚNIOR, F. N. P., SANTOS, G. F. A., DE SOUZA RODRIGUES, A. R. Importância das Lectinas em Virologia—Uma Revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e46491110083-e46491110083, 2020. <doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10083>

MUELLER, U.G.; SACHS, J.L. Engineering microbiomes to improve plant and animal health. **Trends in Microbiology**, Oxon, v. 23, n. 10, p. 606-617, 2015. <doi.org/10.1016/j.tim.2015.07.009>



MUKHTAR, T., SMITH, D., SULTAN, T., SELEIMAN, M. F., ALSADON, A. A., ALI, S., SAAD, M. A. Mitigation of heat stress in *Solanum lycopersicum* L. by ACC-deaminase and exopolysaccharide producing *Bacillus cereus*: effects on biochemical profiling. **Sustainability**, v. 12, n. 6, p. 2159, 2020. <doi.org/10.3390/su12062159>

National Research Council. Basic research opportunities in the earth sciences. Natl. **Acad. Press**, Washington, DC. 2001.

NAVEED, M.; MITTER, B.; REICHENAUER, T.G.; WIECZOREK, K.; SESSITSCH. Incead drought stress resilience of maize through endophytic colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN *Enterobacter* sp. FD 17. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 97, p. 30-39, 2014. <doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.09.014>

NAYLOR, D., COLEMAN-DERR, D. Drought stress and root-associated bacterial communities. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 2223, 2018. <doi.org/10.3389/fpls.2017.02223>

NIU, X., SONG, L., XIAO, Y., GE, W. Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2580, 2018. <doi.org/10.3389/fmicb.2017.02580>

NOTTINGHAM, A. T., BÅÅTH, E., REISCHKE, S., SALINAS, N., MEIR, P. Adaptation of soil microbial growth to temperature: Using a tropical elevation gradient to predict future changes. **Global change biology**, v. 25, n. 3, p. 827-838, 2019. <doi.org/10.1111/gcb.14502>

O'KEEFE, B. R., MURAD, A. M., VIANNA, G. R., RAMESSAR, K., SAUCEDO, C. J., WILSON, J., BUCHEIT, K., MC MARRON, J., CUNHA, N. B. da, ARAUJO, A. C. G., RECH, E. Engineering soya bean seeds as a scalable platform to produce cyanovirin-N, a non-ARV microbicide against HIV. **Plant biotechnology journal**, v. 13, n. 7, p. 884-892, 2015. <doi.org/10.1111/pbi.12309>

OLIVEIRA, S. M. de. Processos promotores de crescimento vegetal por bactérias diazotróficas de vida livre simbióticas de feijão comum, caupi e siratro. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras. 2009. 66p.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G., FERRAZ, C. A. A., PONTES, M. C., CAVALCANTE, N. B., DA CRUZ ARAUJO, E. C., DE OLIVEIRA, A. P., SILVA ALMEIDA, J. R. G Antibacterial activity of terpenoids isolated from *Cnidocolus quercifolius* Pohl (Euphorbiaceae), a Brazilian medicinal plant from Caatinga biome. **European Journal of Integrative Medicine**, v.24, p. 30-34, 2018. <doi.org/10.1016/j.eujim.2018.10.011>

OREN, A. Bioenergetic aspects of halophilism. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 63, n. 2, p. 334-348, 1999. <doi.org/10.1128/MMBR.63.2.334-348.1999>

ORTIZ-CASTRO, R.; VALENCIA-CANTERO, E.; LÓPEZ-BUCIO, J. The Beneficial Role of Rhizosphere Microorganisms in Plant Health and Productivity: Improving Root Development and Nutrient Acquisition. **Acta Horticulturae**, Davis, nº 1009, p.241-250. 2013. <doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.1009.29>

PAUL, K. I., POLGLASE, P. J., O'CONNELL, A. M., CARLYLE, J. C., SMETHURST, P. J., KHANNA, P. K. Defining the relation between soil water content and net nitrogen mineralization. **European journal of soil science**, v. 54, n. 1, p. 39-48, 2003. <doi.org/10.1046/j.1365-2389.2003.00502.x>

PAULINO, M. K. S. S., DE SOUZA, E. R., LINS, C. M. T., DOURADO, P. R. M., LEAL, L. Y. de CARVALHO, MONTEIRO, D. R., REGO JUNIOR, F.E. de A., SILVA, C. U. de C. Influence of vesicular trichomes of *Atriplex nummularia* on photosynthesis, osmotic adjustment, cell wall elasticity and enzymatic activity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 155, p. 177-186, 2020. <doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.036>

PIETIKÄINEN, J., PETTERSSON, M., BÅÅTH, E. Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. **FEMS microbiology ecology**, v. 52, n. 1, p. 49-58, 2005. <doi.org/10.1016/j.femsec.2004.10.002>

PÜSCHEL, D., BITTERLICH, M., RYDLOVÁ, J., JANSA, J. Facilitation of plant water uptake by an arbuscular mycorrhizal fungus: a Gordian knot of roots and hyphae. **Mycorrhiza**, v. 30, n. 2, p. 299-313, 2020. <doi.org/10.1007/s00572-020-00949-9>

QADIR, M.; QUILLÉROU, E.; NANGIA, V.; MURTAZA, G.; SINGH, M.; THOMAS, R. J.; DRECHSEL, P.; NOBLE A.D. Economics of salt-induced land degradation and restoration. In: **Natural Resources Forum**, v. 38, n.4, p. 282-295. 2014. <doi.org/10.1111/1477-8947.12054>

QUEIROZ, L. P. DE, CARDOSO, D., FERNANDES, M. F., MORO, M. F. Diversity and evolution of flowering plants of the Caatinga domain. In: **Caatinga**. Springer, Cham, 2017. p. 23-63.

RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019. <doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.019>

RIBEIRO, C. M.; CARDOSO, E. J. B. N. Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*). **Microbiological research**, Jena, v. 167, n. 2, p. 69-78, 2012. <doi.org/10.1016/j.micres.2011.03.003>

SILAMBARASAN, S., LOGESWARI, P., CORNEJO, P., KANNAN, V. R. Evaluation of the production of exopolysaccharide by plant growth promoting yeast *Rhodotorula* sp. strain CAH2 under abiotic stress conditions. **International journal of biological macromolecules**, v. 121, p. 55-62, 2019. <doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.016>

SILVA, I. L. da; SILVA, L. A. de O. da; COELHO, L. C. B. B. The Brazilian Caatinga Biome and Its Biotechnological Potential. In: **Advances in Applied Science and Technology**, v.5, 2019. <doi.org/10.9734/bpi/aast/v5>

SHELDON A. R., DALAL R.C., KIRCHHOF G., KOPITTKE P.M., MENZIES N.W. The effect of salinity on plant-available water. **Plant and Soil**. v. 418, n. 1, p. 477-491, 2017. <doi.org/10.1007/s11104-017-3309-7>

SHIMOKAWA, K. Preferential degradation of chlorophyll b in ethylene-treated fruits of 'Satsuma' mandarin. **Scientia Horticulturae**, v. 11, n. 3, p. 253-256, 1979. <doi.org/10.1016/0304-4238(79)90007-4>

SHIRIVASTAVA, P.; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015. <doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>

SLEUTEL, S., MOESKOPS, B., HUYBRECHTS, W., VANDENBOSSCHE, A., SALOMEZ, J., DE BOLLE, S., BUCHAN, D., DE NEVE, S. Modeling soil moisture effects on net nitrogen mineralization in loamy wetland soils. **Wetlands**, v. 28, n. 3, p. 724-734, 2008. <doi.org/10.1672/07-105.1>

SORENSEN, P. O., GERMINO, M. J., FERIS, K. P. Microbial community responses to 17 years of altered precipitation are seasonally dependent and coupled to co-varying effects of water content on vegetation and soil C. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 64, p. 155-163, 2013. <doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.04.014>

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 425-448, 2007. <doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>

SUKUMAR, P.; LEGUÉ, V.; VAYSSIERES, A.; MARTIN, F.; TUSKAN, G.A.; KALLURI, U. Involvement of auxin pathways in modulating root architecture during beneficial plant-microorganism interactions. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 5, p. 909-919, 2013. <doi.org/10.1111/pce.12036>

TAHAT, M., ALANANBEH, K., A OTHMAN, Y., LESKOVAR, D. Soil health and sustainable agriculture. **Sustainability**, v. 12, n. 12, p. 4859, 2020. <doi.org/10.3390/su12124859>

TECON, R., OR, D. Biophysical processes supporting the diversity of microbial life in soil. **FEMS microbiology reviews**, v. 41, n. 5, p. 599-623, 2017. <doi.org/10.1093/femsre/fux039>

UNCCD; FAO. 1st Scientific Conference: Synthesis and recommendations. Secretariat of the Convention to Combat Desertification. Geneva: UN, 18 p., 2009.

UNCCD; FAO. Land Degradation Neutrality for Water Security and Combatting Drought. Bonn, Germany. 20 p. 2020.

VACHERON, J; COMBES-MEYNET, E.; WALKER, V.; GOUESNARD, B.; MULLER, D.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; PRIGENT-COMBARET, C. Expression on roots and contribution to maize phytostimulation of 1-aminocyclopropane-1-decarboxylate deaminase gene *acdS* in *Pseudomonas fluorescens* F113. **Plant and Soil**, v. 407, n. 1-2, p. 187-202, 2016. <doi.org/10.1007/s11104-016-2907-0>

VAN DAM, N. M.; BOUWMEESTER, H. J. Metabolomics in the Rhizosphere: Tapping into belowground chemical communication. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 3, p. 256-265, 2016. <doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.008>

VAN ES, H. A new definition of soil. Soil Science Society of America – SSSA. 2017. 2p. >  
<doi.org/10.2134/csa2017.62.1016>

VENTURI V.; KEEL, C. Signaling in the rhizosphere. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 21, n. 3, p. 187-198, 2016. <doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.005>

VERMA, A. S. Ecological balance: An indispensable need for human survival. **Journal of Experimental Zoology India**, Allahabad, v. 21, n. 1, p. 407-409, 2018.

VORHOLT, J. A. Microbial life in the phyllosphere. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 10, n. 12, p. 828-840, 2012. <doi.org/10.1038/nrmicro2910>

VOŘÍŠKOVÁ, J., ELBERLING, B., PRIEMÉ, A. Fast response of fungal and prokaryotic communities to climate change manipulation in two contrasting tundra soils. **Environmental Microbiome**, v. 14, n. 1, p. 1-15, 2019. <doi.org/10.1186/s40793-019-0344-4>

WHITAKER, J., OSTLE, N., NOTTINGHAM, A. T., CCAHUANA, A., SALINAS, N., BARDGETT, R. D., CCAHAUNA, A., SALINAS, N., BARDGETT, R. D., MEIR, P., MCNAMARA, N. P. Microbial community composition explains soil respiration responses to changing carbon inputs along an Andes-to-Amazon elevation gradient. **Journal of Ecology**, v. 102, n. 4, p. 1058-1071, 2014. <doi.org/10.1111/1365-2745.12247>

XIE, H., ZHANG, Y., WU, Z., LV, T.A. Bibliometric analysis on land degradation: Current status, development, and future directions. **Land**, v. 9, n. 1, p. 28, 2020. <doi.org/10.3390/land9010028>

YI, Y.; HUANG, W.; GE, Y. Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Nova York, v. 24, n. 7, p. 1059-1065, 2008. <doi.org/10.1007/s11274-007-9575-4>

YAN, N., MARSCHNER, P., CAO, W., ZUO, C., QIN, W. Influence of salinity and water content on soil microorganisms. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 3, n. 4, p. 316-323, 2015. <doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.11.003>

ZHANG, F.S.; CUI, Z.L.; CHEN, X.P.; JU, X.T.; SHEN, J.B.; CHEN, Q.; LIU, X.J.; ZHANG, W.F.; MI, G.H.; FAN, M.S.; JIANG, R.F. Integrated nutrient management for food security and environmental quality in China. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 116, p. 1-40. 2012. <doi.org/10.1016/B978-0-12-394277-7.00001-4>

## **CAPÍTULO 2**

---

---

**PROSPECÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO  
DE PLANTAS EM SOLO RIZOSFÉRICO DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO E  
INOCULAÇÃO EM *Sorghum bicolor* [L.] MOECH EM CONDIÇÕES DE  
ESTRESSE HÍDRICO**

## Prospecção de bactérias promotoras de crescimento de plantas em solo rizosférico do semiárido brasileiro e inoculação em *Sorghum bicolor* [L.] Moench em condições de estresse hídrico

### RESUMO

Os ambientes acometidos por estresses bióticos e abióticos são considerados uma fonte promissora para a prospecção de microrganismos tolerantes, principalmente quando capturados no sistema radicular de plantas. A rizosfera é considerada um *hotspot* de vida microbiana e o microcosmos criado nessa região armazena os mais diversos tipos de mecanismos diretos e indiretos de mitigação a estresses ambientais. Com objetivo de avaliar o potencial de microrganismos presentes em região com balanço hídrico do solo negativo foi coletado o solo rizosférico de cinco espécies (*Cnidioscolus quercifolius* (Faveleira); *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz (Catingueira); *Aspidosperma pyriformium* (Pereiro); *Sida galheirensis* (Malva Branca); *Jatropha curcas* (Pinhão Manso)) estabelecidas no Núcleo de Desertificação no semiárido de Pernambuco. Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) foram isoladas e foram determinadas suas capacidades de apresentar mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento e proteção a estresses ambientais (formação de biofilme; produção de exopolissacarídeos (EPS); solubilização de fosfatos; biossíntese de ácido indolacético (AIA); crescimento em meio enriquecido com ACC como única fonte de nitrogênio; fixação biológica de nitrogênio (FBN); halofilia e halotolerância; produção de N-Amoniacal e produção de enzima extracelular (Catalase)). Foram obtidas 60 bactérias isoladas em meio de cultura com restrição na atividade de água ( $A_w = 0,957$ ). As bactérias isoladas apresentaram uma resposta expressiva aos mecanismos avaliados, em que 81% apresentou produção de exopolissacarídeos, 78% formação de biofilme, 92% síntese de AIA, 65% produção de ACC deaminase, 63% FBN, 50% halotolerância, 77% produção de N-amoniaco, 60% produção da enzima catalase e 44% solubilização de fosfato de cálcio. Foram selecionadas as 20 BPCPs que apresentaram o maior número de mecanismos e seu potencial de crescimento foi avaliado em plantas de sorgo forrageiro (IPA-SF-15) submetidas a umidades do solo referentes a 80% ( $0,202 \text{ g g}^{-1}$ ), 50% ( $0,126 \text{ g g}^{-1}$ ) e 30% ( $0,076 \text{ g g}^{-1}$ ) da capacidade de pote (CP). A inoculação com BPCPs contribuiu para a redução dos efeitos danosos da restrição hídrica. As umidades apresentaram efeito significativo ( $p < 0,05$ ), e na comparação entre os controles sem inoculação e os tratamentos com a umidade fixada em 30% da CP inoculados com as BPCPs, foi observado que a altura de planta apresentou um acréscimo de 11%, a massa fresca da parte aérea teve um ganho de 237% e a biomassa seca apresentou aumento de 12%. Já a espessura do caule das plantas apresentou interação significativa ( $p < 0,01$ ) sendo que o diâmetro de caule das plantas inoculadas teve aumento de 75%, em comparação com o controle sem inoculação. As bactérias 1.4 e 7.2 apresentaram contribuições positivas para os parâmetros de biometria de plantas, evidenciando a importância da prospecção de BPCPs em ambientes extremos ou perturbados, que tenham o potencial de mitigar estresses abióticos.

Palavras-chave: Bioprospecção. Promoção de Crescimento. Microrganismos. Rizosfera. Seca.

**Prospecting for growth-promoting bacteria of plant in rhizosphere soil at Brazilian semiarid region and inoculation in *Sorghum bicolor* [L.] Moech under water stress conditions**

**ABSTRACT**

The environments affected by biotic and abiotic stresses are considered a promising source for prospecting tolerant microorganisms, especially when captured in the root system of plants. The rhizosphere is considered a hotspot for microbial life and the microcosm created in this region of the plant stores the most diverse types of direct and indirect mechanisms to mitigate environmental stresses. In order to evaluate the potential of microorganisms present in a region with negative soil water balance, rhizospheric soil from five species (*Cnidoscolus quercifolius* (Faveleira); *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz (Catingueira); *Aspidosperma pyriformis* (Pereiro); *Sida galheirensis* (Malva Branca); *Jatropha curcas* (Pinhão Manso)) in Desertification Nucleus in the semiarid region of Pernambuco was collected. Plant growth-promoting bacteria (PGPB) were isolated and the direct and indirect mechanisms of growth promotion and protection from environmental stresses, such as: Biofilm formation; Production of exopolysaccharides ; Phosphate solubilization; Biosynthesis of indolacetic acid (IAA); Growth in medium enriched with ACC as the only nitrogen source; Asymbiotic nitrogen fixation (NBF); Halophilia and Halotolerance; Production of N-Ammoniacal and Production of extracellular enzyme (Catalase). From a total of 60 bacteria isolated in culture medium with restriction in water activity ( $A_w = 0.957$ ). The isolated bacteria showed an excellent response to the mechanisms evaluated (81% showed exopolysaccharide production, 78% biofilm formation, 92% IAA synthesis, 65% ACC deaminase production, 63% asymptomatic nitrogen fixation, 50% halotolerance, 77% production of N-ammoniacal, 60% production of the enzyme catalase and 44% solubilization of calcium phosphate). The 20 PGPBs that presented the largest number of mechanisms were selected and their growth potential was evaluated in Sorghum Forage plants (IPA-SF - 15) subjected to soil humidity of 80% (0.202 g g<sup>-1</sup>), 50% (0.126 g g<sup>-1</sup>) and 30% (0.076 g g<sup>-1</sup>) of the pot capacity (PC). Inoculation with BPCPs contributed to reducing the harmful effects of water restriction. The moisture content showed a significant effect ( $p < 0.05$ ), and in the comparison between the controls without inoculation and the treatments with the humidity fixed at 30% of the PC inoculated with the BPCPs, it was observed that the plant height showed an increase of 11%, the fresh weight of the aerial part had a gain of 237.35% and the dry biomass presented an increase of 12.66%. The stem thickness of the plants, on the other hand, showed a significant interaction ( $p < 0.01$ ) between the factors, of the stem diameter had an increase of 75.18%, in comparison with the control without inoculation. Bacteria 1.4 and 7.2 showed positive contributions to the parameters of plant bimetry, showing the importance of prospecting for PGPBs in extreme or disturbed environments with the aim of mitigating abiotic stresses.

**Keywords:** Biological Screening; Growth promoting; Microorganisms; Rhizosphere; Drought.

### 3.1 INTRODUÇÃO

Na pedosfera existe uma importante região dinâmica onde ocorrem inúmeras reações para a manutenção e equilíbrio do ecossistema. Esse lugar, chamado de rizosfera pode ser conceituado como a interface entre as raízes das plantas e o solo, onde as interações entre uma miríade de organismos edáficos interferem na ciclagem de nutrientes, afetando assim, o crescimento e desenvolvimento das plantas e a relação dos vegetais com estresses bióticos e abióticos (SPOLAOR et al., 2016, ARAÚJO et al., 2020).

Formas de mitigar os efeitos deletérios provocados pelos agentes estressantes são de extrema valia para a agricultura, principalmente quando se leva em consideração o desenvolvimento sustentável. Nas últimas décadas, cientistas estão buscando alternativas que melhorem a produção no campo e que reduzam danos ao meio ambiente. Para tanto, tem se avaliado o uso de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas. Elas podem estar inseridas em um grupo de microrganismos que carregam em seu genoma o poder de contribuir com o crescimento e desenvolvimento das plantas por meio de mecanismos diretos e/ou indiretos. Para Hungria et al. (2010) essas bactérias, geralmente, estão associadas às superfícies radiculares, na rizosfera e filosfera, além de coexistir entre os tecidos internos dos vegetais.

Ao sentir as primeiras modificações no ambiente, as plantas disparam uma descarga de moléculas sinalizadoras no solo, que por quimioatração provoca a migração de bactérias do rizoplano ou do solo adjacente e a adsorção delas na rizosfera (ANSARI et al., 2017). Com o sistema de *quorum sensing* (QS), essas rizobactérias regulam a população microbiana da rizosfera, para que assim haja o início da ativação dos mecanismos que irão contribuir com a promoção de crescimento e alívio de estresse da planta (SHARMA; SAHGAL; JOHRI, 2003; KURAMAE et al., 2020).

Com a intensidade do estresse abiótico, o vegetal sofre um estresse interno, denominado de estresse oxidativo. Espécies reativas de oxigênio (EROs) são formadas e contribuem com o desequilíbrio iônico da solução, além da destruição de membranas e desnaturação de proteínas (NGUMBI; KLOEPPER, 2016).

As EROs são formas moleculares reduzidas do oxigênio, extremamente reativas, destacando-se o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que se acumula na célula vegetal, como subproduto normal do metabolismo aeróbico e de processos fotooxidativos. O desbalanço dessas espécies reativas tem, como consequência, alterações no metabolismo vegetal, devido à



restrição dos processos fotossintéticos (HASANUZZAMAN et al., 2018). Um dos agentes do complexo antioxidativo no combate às EROs é a enzima catalase (CAT), que tem a capacidade de degradar o peróxido de hidrogênio de maneira viável.

Além disso, a síntese de ácido indolacético (AIA) e 1-aminociclopropano 1-carboxilato (ACC) estão correlacionadas ao alívio de estresse, por auxiliar na clivagem do etileno, que é um composto que contribui com a inibição do desenvolvimento vegetal (AHMED; KIBRET, 2014; ARAÚJO et al., 2020). A enzima ACC deaminase, atua na clivagem do etileno em subprodutos menos tóxicos como é o caso do  $\alpha$ -cetobutirato e amônia (BARNAWAL et al., 2016).

A amônia produzida por bactérias pode ser utilizada pelas plantas como fonte de nitrogênio para o seu crescimento, como constatado por Sood; Chanda; Singh. (2002), que observaram o aumento significativo da atividade da enzima glutamina sintetase que juntamente com a enzima glutamato sintetase participam da via primária de assimilação de  $\text{NH}_4^+$  por plantas além de suprimir a ação de fitopatogênicos (SINGH et al., 2019).

Diversas plantas, principalmente as leguminosas, possuem a propriedade de realizar a simbiose com microrganismos do solo, mais precisamente bactérias que auxiliam na fixação do nitrogênio. Essa ligação ocorre através de determinantes moleculares das plantas que sinalizam a preferência por algumas cepas colonizadoras (FISCHER et al., 2011).

Uma planta pertencente à família das leguminosas é a Catingueira (*Caesalpinia pyramidalis*) que é endêmica do bioma Caatinga e possui alto valor biotecnológico para a indústria, principalmente pela produção de enzimas como a celulase e a L-asparaginase (SILVA et al., 2015).

É importante salientar que foram isolados de rizobactérias da Catingueira, substâncias antioxidantes e antimicrobianas, estudadas principalmente pela indústria farmacêutica. Entretanto, com estudos incipientes na prospecção de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP's).

Outras espécies que são facilmente encontradas no Semiárido são a *Cnidioscolus quercifolius* (Faveleira), a *Aspidosperma pyriformium* (Pereiro), a *Sida galheirensis* (Malva Branca), a *Jatropha curcas* (Pinhão Manso). Todas elas com um potencial consolidado para a indústria farmacêutica, principalmente por possuir moléculas importantes para o tratamento que vai desde o câncer até ulcerações cutâneas (SILVA et al., 2015; OLIVEIRA JUNIOR et al.,

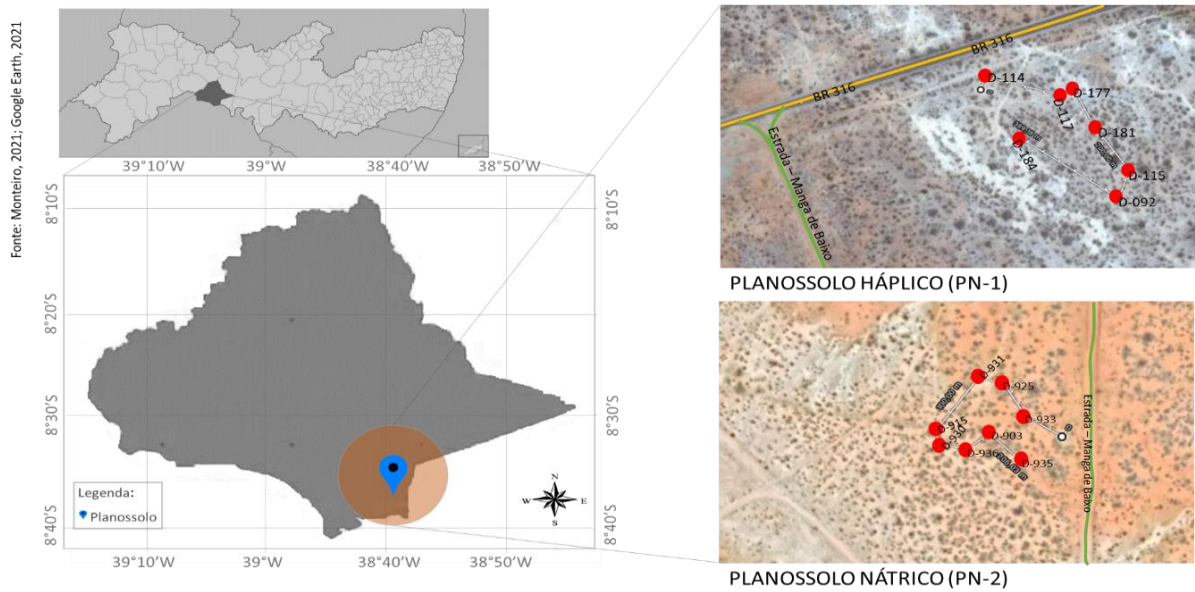
2018). Além disso, possuem alto poder antimicrobiano (ALMEIDA et al., 2012). Todavia, da mesma forma do que acontece com a Catingueira, os estudos com essas espécies são negligenciados. Pouco se é conhecido, a nível da rizosfera dessas plantas, quando se trata de microrganismos promotores de crescimento e mitigadores de estresse biótico e abiótico em plantas.

Dessa forma, é importante que sejam avaliados o potencial das bactérias encontradas na rizosfera de plantas endêmicas da Caatinga com vistas ao alívio de estresse ambiental. Assim, o objetivo desse trabalho foi realizar a prospecção de BPCPs de espécies endêmicas da Caatinga e selecionar os isolados que promovam o crescimento do sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) submetido a estresse hídrico.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 Caracterização da área de coleta do solo rizosférico de plantas estabelecidas no Semiárido**

O solo foi coletado na Mesorregião do Sertão do estado de Pernambuco, na cidade de Belém de São Francisco (8°45'57''S e 38°57'45''W), próximo ao Assentamento de Manga de Baixo, em duas áreas contíguas em abril de 2019 (Figura 1). Os solos foram classificados em Planossolo háplico (PH-1) e Planossolo Nátrico (PN-2) de acordo com classificação da Embrapa (2018) (Tabela 1) e descritos em Camara et al. (2021).



**Figura 1.** Mapa de localização do município de Belém de São Francisco – PE. Os pontos vermelhos apontam para os locais onde as plantas estavam estabelecidas

**Tabela 1.** Coordenadas geográficas e altitude dos pontos de coleta do solo rizosférico

NOMECLATURA	CLASSIFICAÇÃO	LOCALIZAÇÃO	ALTITUDE
PH1	PLANOSSOLO HÁPLICO	8° 42' 08''S 38° 51' 39''W	331 m
PN2	PLANOSSOLO NÁTRICO	8° 44' 20''S 38° 51' 19''W	325 m

Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo BShw', semiárido quente com temperatura média anual de 26 °C, precipitações pluviárias da ordem de 400 a 600 mm e evapotranspiração de referência com média anual de 2.100 mm (JACOMINE et al., 1973). O período chuvoso tem início no mês de janeiro e término no mês de Abril (APAC, 2021), com precipitação acumulada para 2019, ano em que foi realizada a coleta do solo de 325,7 mm (Tabela 2). A área é coberta por vegetação caducifólia espinhosa de porte baixo e pouco densa. A flora é ainda pouco conhecida (GIULIETTI et al., 2003). A partir da maior repetição na paisagem, foram selecionadas 5 espécies: *Cnidoscolus quercifolius* (Faveleira); *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz (Catingueira); *Aspidosperma pyrifolium* (Pereiro); *Sida galheirensis* (Malva Branca); *Jatropha curcas* (Pinhão Manso).

**Tabela 2.** Pluviometria média mensal e acumulada para o período correspondente aos meses de janeiro a dezembro de 2019 para o município de Belém de São Francisco - PE, dados da estação IBÓ - CHESF (APAC, 2021)

<b>Meses (2019)</b>	<b>Jan</b>	<b>Fev</b>	<b>Mar</b>	<b>Abr</b>	<b>Mai</b>	<b>Jun</b>	<b>Jul</b>	<b>Ago</b>	<b>Set</b>	<b>Out</b>	<b>Nov</b>	<b>Dez</b>	<b>Acumulado (mm)</b>
<b>PP* (mm)</b>	-	89,8	151,1	16,1	6,7	9,4	42,7	2,2	0,7	1,2	3,6	1,8	325,7

\*PP – Precipitação pluviométrica mensal



Faveleira  
(*Cnidoscolus quercifolius*)



Pinhão  
(*Jatropha curcas*)



Malva Branca  
(*Sida cordifolia*)



Pereiro  
(*Aspidosperma pyriformium*)



Catingueira  
(*Caesalpinia pyramidalis*)

**Figura 2.** Espécies da caatinga selecionadas para a prospecção de rizobactérias promotoras de crescimento

### 3.2.2 Caracterização Química e Física do solo rizosférico

Na caracterização física (Tabela 3) determinaram-se a granulometria e a argila dispersa em água na terra fina seca ao ar (TFSA) a partir do método do densímetro; densidade do solo (método da torção parafinado) (EMBRAPA, 2018). A caracterização química (Tabela 4) realizou-se, na TFSA, o pH na relação solo : água na proporção 1: 2.5; os cátions trocáveis ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ), os cátions divalentes foram extraídos em KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e os cátions monovalentes foram extraídos na presença de uma solução duplo ácida (Melich – 1) (EMBRAPA, 2018). A soma de bases (SB) e a percentagem de Sódio trocável (PST) foram calculados a partir dos valores obtidos no complexo sortivo.

**Tabela 3.** Caracterização física do solo rizosférico, coletado a uma profundidade de 0-20 cm, por espécie da Caatinga do Núcleo de Desertificação de Cabrobó – PE

Espécies	Ds (Kg dm <sup>-3</sup> )	Composição granulométrica da TFSA (g Kg <sup>-1</sup> )			ADA (g Kg <sup>-1</sup> )	GF (%)	GD
		AT (2 - 0.05 mm)	Silte (0.05 - 0.002 mm)	Argila (<0.002mm)			
<i>Cnidoscolus quercifolius</i>		611.56	302.63	85.82	57	34	66
<i>Caesalpinia pyramidalis</i>		727.37	207.89	64.74	43	33	67
<i>Aspidosperma pyrifolium</i>	1.77±0.05	719.12	224.25	56.63	43	23	77
<i>Sida galheirensis</i>		826.01	114.69	59.30	50	16	84
<i>Jatropha curcas</i>		678.22	257.84	63.95	43	32	68

TFSA – Terra fina seca ao ar; Ds – Densidade do Solo (com desvio padrão); AT – Areia total; ADA – Argila dispersa em Água; GF – Grau de Flocculação; GD – Grau de Dispersão

**Tabela 4.** Caracterização química do solo coletado a profundidade de 0 – 20 cm na rizosfera de plantas da Caatinga do Núcleo de Desertificação de Cabrobó - PE

Espécies	pH água (1:2,5)	Ca	Mg	Na	K	SB	H+Al	CTC	PST (%)
<i>Cnidoscolus quercifolius</i>	7.25	3.32	0.50	0.08	0.11	4.01	0.93	4.94	1.54
<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	7.29	2.80	0.40	0.11	0.08	3.39	1.03	4.42	2.42
<i>Aspidosperma pyrifolium</i>	6.85	2.73	0.36	0.07	0.11	3.27	2.10	5.37	1.29
<i>Sida galheirensis</i>	7.46	3.01	0.44	0.10	0.10	3.64	1.50	5.14	1.85
<i>Jatropha curcas</i>	8.17	4.59	0.68	0.09	0.15	5.51	0.97	6.48	1.44

SB – Soma de bases (SB = Ca + Mg + Na + K); CTC – Capacidade de troca catiônica (CTC = SB + (Al + H)); PST – Porcentual de sódio trocável (PST = (100\*Na+)/CTC)

### 3.2.3 Isolamento e purificação dos microrganismos promotores de crescimento

Foram selecionadas aleatoriamente 3 indivíduos de cada espécie e coletado o solo rizosférico, tamizado em malha 4 mm e armazenado em freezer horizontal a -10 °C até a realização das análises. A partir desse material, 1 grama da terra fina foi colocada em 9 mL de solução salina (NaCl a 0,85%) em condições estéreis.

Da solução em suspensão foi realizada a diluição seriada decimal em concentração  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ , com 3 repetições e inoculada em meio de cultura King B (KING; WARD; RANEY, 1954) (ANEXO I) adicionado Sorbitol ( $285 \text{ g L}^{-1}$ ), fazendo com que a atividade de água ( $A_w$ ) fosse equivalente a 0,957. As placas foram incubadas em estufa BOD por 72 horas a 28 °C.

Após o crescimento das colônias foram realizadas quantificação das unidades formadoras de colônia (UFCs), a caracterização morfológica das colônias, e posterior isolamento e purificação das colônias. Após o processo de purificação foi preparado o estoque celular em 1 mL de meio King B com 1 mL de glicerina e armazenado em freezer a -20 °C.

#### 3.2.2.1 Análise morfofisiológica das colônias

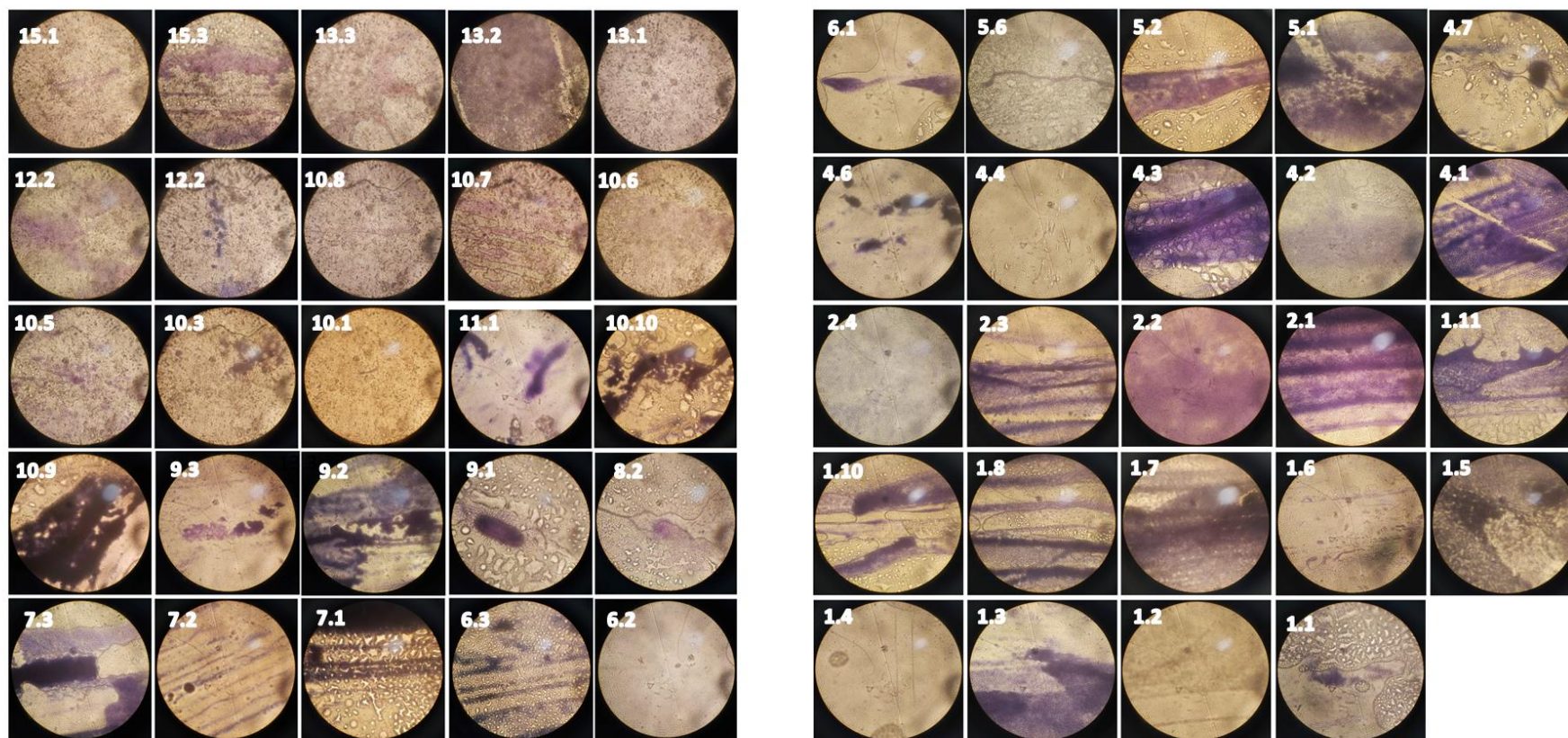
Para a caracterização morfofisiológica foram analisados: velocidade de crescimento [rápido – crescimento até 3 dias, intermediário – crescimento até 6 dias ou lento – crescimento acima de 6 dias]; forma da colônia [circular ou irregular]; transparência da colônia [opaca, translúcida ou transparente]; cor da colônia [branca, amarela ou creme]; presença de muco [presente ou ausente]; quantidade de muco [muito, intermediário ou pouco]; tipo de muco [viscoso, floculoso ou seco] e elevação [muito elevada, levemente elevada ou sem elevação] (HUNGRIA; ARAÚJO, 1994).

De acordo com os dados observados um dendograma de similaridade (70 %) foi construído, partindo de uma matriz binária de todos os isolados. O agrupamento foi gerado no software PAST 4.02 e partiu do método UPGMA baseando-se no índice de presença e ausência de Jacard.

### **3.2.4 Teste da Coloração Gram**

Inicialmente se aplicou a Violeta de Genciana ou Violeta Cristal (1 minuto), e posterior lavagem com água destilada estéril (ADE). Após a lavagem pipetou-se o lugol (1 minuto), com nova passagem de ADE. Álcool-cetona foi a outra solução aplicada sobre o material laminado por 15 segundos e lavou-se em água corrente. Por último, a lâmina foi coberta com fucsina de gram por 30 segundos (GRAM, 1884; BOTTONE et al., 1988). Seguiu-se de nova lavagem e leitura em microscópio (Figura 3).





**Figura 3.** Teste de coloração Gram em bactérias promotoras de crescimento isoladas da rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga

### 3.2.5 Caracterização dos mecanismos de promoção de crescimento das bactérias

#### 3.2.5.1 Produção de Exopolissacarídeos (EPS)

A produção de EPS é caracterizada visualmente a partir da formação de halos ao redor da cultura, sendo determinada com auxílio da medição com paquímetro digital (KAVAMURA et al., 2013). Faz-se necessário que a análise seja realizada em triplicata pela variabilidade do método.

Foram pipetados 5µL de suspensão bacteriana de cada isolado formando círculos de aproximadamente 5mm de diâmetro, em placa de Petri com meio de cultura modificado (ANEXO II). Os isolados foram incubados em estufa BOD por 72 horas a uma temperatura de 28 °C (GUIMARÃES et al., 1999).

O método químico é realizado para confirmar a produção de EPS, em que se mistura uma alça de platina impregnada com a colônia em 2 mL de álcool etílico a 95%. Caso o solvente fique turvo, a produção de EPS é negativa (PAULO et al., 2012).

#### 3.2.5.2 Formação de Biofilme

A avaliação da formação de biofilme por parte dos microrganismos rizosféricos se dá a partir da capacidade com que as células têm de se aderir a superfície de determinado local (O'TOLLE; KOLTER, 1998). *In vitro* a análise foi realizada com o auxílio de tubos de poliestireno com volume 2 mL.

Inicialmente a colônia foi transferida para meio TSB (10%) (Anexo III) e esperou-se até se obter uma densidade de  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> ( $DO_{550\text{ nm}} = 0.1$ ). Com isso, 100µL foi pipetado no microtubo contendo 900µL de meio TSB (10%), e incubados por 96 horas a 40°C. Transcorrido esse tempo o conteúdo foi aspirado com auxílio de um pipetador automático e o tubo foi lavado por 3 vezes com (ADE).

Posteriormente, foi adicionado 1 mL de violeta cristal a 0,1 % por 15 min, procedendo-se nova lavagem em ADE para tirar o excesso de corante após o tempo. A quantificação foi realizada em espectrofotômetro (Agilent/HP 8453 UV-Visible Spectrophotometer G1103A),

partindo da colocação de 1mL de álcool etílico em cada tubo. Esta análise foi realizada em triplicata.

### 3.2.5.3 Qualificação da solubilização de fosfatos de Cálcio e Alumínio

De acordo com o método proposto por Verma et al. (2001), em um meio de cultura para solubilizadores de fosfato de cálcio (Anexo IV) foi inoculado 5 µL da suspensão bacteriana em três pontos equidistantes da placa de Petri e colocado em incubação por 7 dias a 28 °C. A solubilização do P-Ca é percebida a partir da formação de um halo transparente ao redor da colônia, que é medida com auxílio de paquímetro.

Assim como para a avaliação das bactérias solubilizadoras de cálcio, foi inoculado o mesmo volume de suspensão bacteriana no meio para solubilizadoras de alumínio (Anexo V), incubado por 15 dias a 28 °C e aferido a formação e tamanho do halo ao redor da colônia (HARA; OLIVEIRA, 2004).

A partir dos valores obtidos em triplicata, foi realizada a média aritmética e calculado o índice de solubilização (IS) (equação 1), e estabelecido a classificação (SILVA FILHO; VILDOR, 2000).

$$IS = \frac{\phi_{Halo}}{\phi_{Colônia}} \quad (\text{Equação 1})$$

**Onde:**

$\phi_{Halo}$  – Diâmetro do halo formado ao redor da colônia (mm);

$\phi_{Colônia}$  – Diâmetro da colônia formada após o período de incubação (mm).

### 3.2.5.4 Síntese de fitohormônios - Produção de Ácido indolacético (AIA)

A produção de AIA por parte dos microrganismos foi avaliada a partir do método proposto por Gordon e Weber (1951), que consiste no princípio da colorimetria como forma de estimar se há ou não produção de AIA (formação da cor rósea intensa) e quantificar o teor a partir da intensidade da absorvância a 530 nm em espectrofotômetro (Agilent/HP 8453 UV-Visible Spectrophotometer G1103A) (HARTMANN; SINGH; KLINGMÜLLER, 1983).

Em tubos de ensaio, 100 µL de suspensão bacteriana foram incubados com 10 mL de meio TSB (10%) suplementado com 5mM de L-Triptofano pelo período de 96 horas a 28°C em completo escuro e sob agitação intermitente de 150 rpm. Decorrido o período incubatório, foram inoculados 1mL em tubo de poliestireno com volume de 2mL em fluxo laminar e centrifugados a 10.000 rpm, o sobrenadante teve uma alíquota de 750 µL e foi transferido para outro microtubo e adicionado 750 µL do reagente de Salkowski (1 mL de FeCl<sub>3</sub> 0,5M; 50 mL de ADE; 30 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e esperou-se 30 minutos para haver a formação da cor.

A quantificação do AIA foi determinada pela comparação com curva padrão com concentrações definidas a partir do hormônio sintético comercial (0; 10; 30; 50; 75; 100 µg mL<sup>-1</sup>), por meio da equação 2 ( $R^2 = 0,998$ ). De posse dos valores quantitativos os isolados foram classificados conforme a Tabela 5 (KAVAMURA et al., 2013).

$$y = 0,0122x - 0,0013$$

Equação 2

**Tabela 5.** Classificação da quantificação de ácido indolacético produzido por bactérias promotoras de crescimento (KAVAMURA et al., 2013)

Concentração de AIA (µg mL <sup>-1</sup> )	CLASSIFICAÇÃO
AIA < 1	Baixa produção
1 < AIA < 11	Média produção
11 < AIA < 50	Alta produção
AIA > 50	Elevada produção

### **3.2.5.5 Presença da enzima 1-aminociclopropano 1-carboxilato deaminase (ACC-desaminase)**

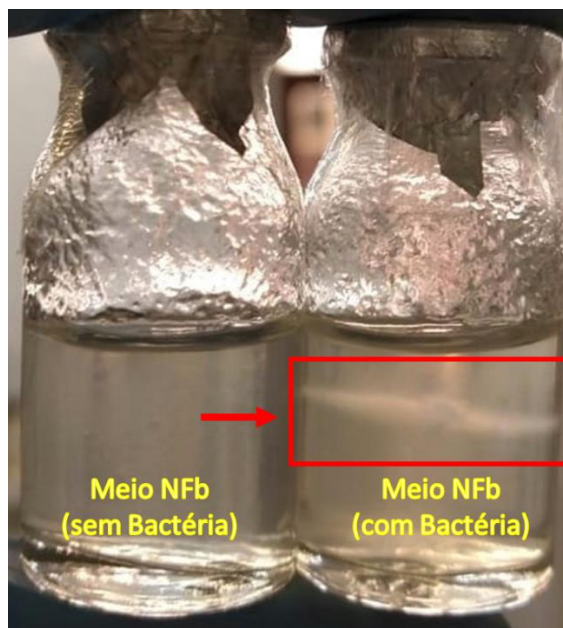
A determinação é realizada a partir da observação do crescimento de colônias em meio enriquecido com ácido 1-aminociclopropano 1-carboxilato (ACC) como única fonte de nitrogênio (PENROSE; GLICK, 2003).

Os isolados foram colocados para crescer em meio TSB (100%) por 48 horas e centrifugados a 12.000 rpm por 5 min. Após isso, o sobrenadante foi descartado e o microtubo lavado com solução salina estéril (NaCl a 0.85%) por 3 vezes. Depois de lavados, o material foi resuspenso em água ultrapura (1mL) autoclavada e inoculados 20 µL em placas de Petri contendo meio de cultura M9 (Anexo VI), com e sem ACC 3mM na composição. Procedeu-se a incubação do material em estufa BOD por 10 dias a uma temperatura de 28°C.

### **3.2.5.6 Crescimento de bactérias em meio NFb semissólido**

Foram avaliadas a capacidade de crescimento de bactérias com potencial para a fixação de nitrogênio em meio semissólido livre de nitrogênio (NFb) (Anexo VII), de acordo com metodologia proposta por Döbereiner; Baldani; Baldani (1995).

A técnica consiste em verificar a formação de película abaixo da superfície do meio NFb (Figura 4). Além disso caso haja modificação de tonalidade do verde claro para o azul indica alteração de pH por parte das bactérias avaliadas, fato que não foi observado no nosso trabalho.



**Figura 4.** Comparativo dos frascos contendo o controle sem inóculo e outro com inoculação com cepa bacteriana formadora de película, conforme marcação, evidenciando a possível potencialidade das bactérias em fixar nitrogênio de forma assimbiótica em meio semi-sólido livre de nitrogênio (NFb)

### 3.2.5.7 Halofilia e halotolerância das BPCP's

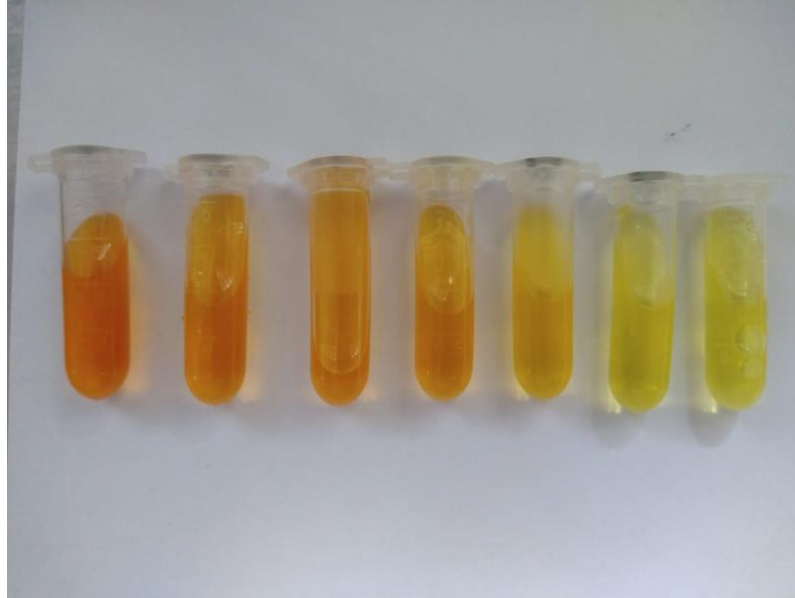
Os isolados foram estriados em meio Ágar-Halofílico (Anexo VIII) (VINOTHINI et al., 2014) e incubados por 7 dias a 30°C em estufa BOD. Após o período de incubação foi avaliada a resistência das estirpes a salinidade.

De posse das observações no teste de halofilia, foi traçado um espectro de tolerância dos isolados bacterianos com concentrações crescentes no meio Ágar Halofílico (0; 1; 2.5; 5 Mol de NaCl), confirmando as estirpes de bactérias halotolerantes (EBH).

### 3.2.5.8 Produção de amônia (N-amoniacal)

As células selecionadas foram incubadas por 48 horas a 28 °C, em 10 mL de água peptonada (1 % Peptona bacteriológica; 0,5 % NaCl), pH 7,0. Após a incubação, 500 µL do Reagente de Nessler (10 % HgI<sub>2</sub>; 50 % KI em solução aquosa de NaOH a 32 %). A presença de N amoniacal foi verificada a partir da observação de precipitado amarelo-castanho (Figura 5).

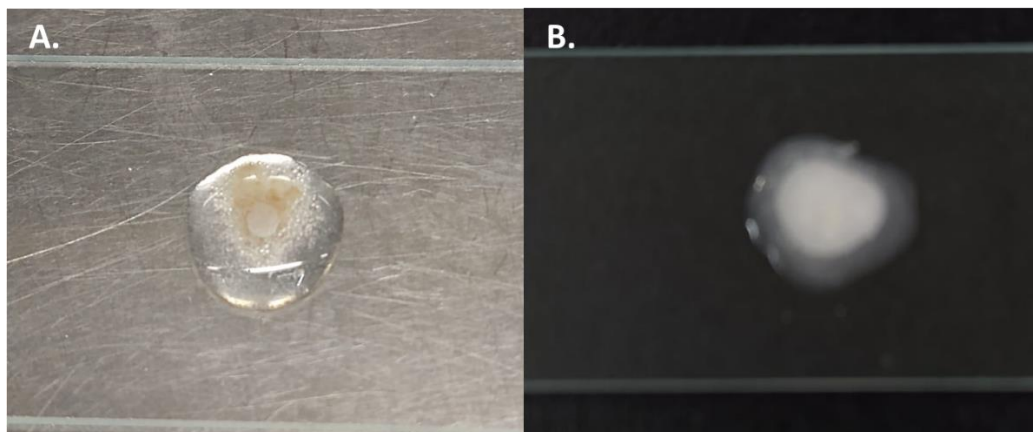
Quanto maior a concentração de N – amoniacal, mais intensa será a coloração (CAPPUCCINO; SHERMAN, 2014). A análise foi realizada em triplicata.



**Figura 5.** Formação das cores em gradiente de tonalidade, de acordo com a maior presença (micro tubo da esquerda - acastanhado) até a ausência (microtubo da direita - amarelo claro) de N-amoniacal

### 3.2.5.9 Presença da enzima Catalase (CAT) em BPCP's

Com auxílio de uma alça de platina as colônias foram transferidas para uma lâmina microscópica estéril e adicionado gotas de solução de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a 3%, sendo observada a formação de bolhas de gás (CAPPUCCINO; SHERMAN et al., 2014). O teste é considerado positivo quando ocorre a alta formação de bolhas (Figura 6A). Quanto mais dispersas a formação de efervescência ou ausência desta, considera-se negativa a produção de Catalase (Figura 6B).



**Figura 6.** Teste da produção da enzima Catalase. A) Teste com resultado positivo devido a intensa efervescência de bolhas de gás. B) Teste com observação negativa devido a presença de bolhas de forma dispersa e em baixa quantidade

### 3.2.6 Seleção dos isolados para o teste de promoção de crescimento em *Sorghum bicolor* [L.] Moech

Dentre todos os isolados obtidos, 13 bactérias apresentaram o melhor desempenho na produção de compostos que contribuem para a promoção de crescimento e para o alívio de estresses abióticos. Além dessas, 7 bactérias também foram consideradas por estarem relacionadas com produção de ácido indolacético (AIA) em conjunto com algum outro mecanismo de tolerância, seja produção de enzimas extracelulares (catalase) ou halotolerância. Com isso, um total de 20 bactérias (1.4; 1.8; 1.10; 1.11; 2.1; 2.3; 2.4; 4.1; 4.2; 4.4; 4.6; 4.7; 6.1; 6.3; 7.2; 9.3; 10.8; 10.9; 12.2; 15.1) foram selecionadas para o experimento de inoculação nas plantas de sorgo forrageiro (IPA - SF 15) submetidas a estresse hídrico.

#### 2.2.6.1 Inoculação das BPCPs em *Sorghum bicolor* [L.] Moech. submetido a estresse hídrico

Inicialmente, as sementes de sorgo passaram por um processo de desinfestação, a partir da imersão em álcool 70 % (3 min); posteriormente foram colocadas em hipoclorito de sódio 2,5 % (v/v) (7 min); novamente suspensas em álcool 70 % (1 min); seguida de lavagem em ADE. Após a lavagem a ADE foi plaqueada em meio Ágar-Água para verificação do crescimento de algum microrganismo contaminante.



As BPCP's foram crescidas em meio King B, sob agitação a 150 rpm por 48 horas. Após atingirem uma densidade ótica de  $10^8$  ( $DO_{550\text{ nm}} = 0,1$ ), as sementes desinfestadas foram imersas por duas horas (BISEN et al., 2015; KAVAMURA et al., 2013).

Após esse procedimento foi continuada com a semeadura em substrato inerte estéril (areia com vermiculita (2:1) autoclavadas). Aos 15 dias de aplicação do estresse hídrico, foi realizada a reinoculação das BPCPs (1 mL) na base da planta, o mais próximo ao sistema radicular.

### **3.2.6.2 Condução do experimento e manejo de irrigação e nutricional das plantas de Sorgo (IPA SF 15)**

O experimento foi conduzido em Casa de Vegetação pertencente ao Programa de Pós-graduação em Ciência do solo na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), durante o período de 27 de outubro de 2020 à 15 de dezembro de 2020, perfazendo um total de 50 dias.

Os testes de capacidade de pote (CP) foram realizados em laboratório para estimar as umidades utilizadas durante o experimento. A partir dessa estimativa foram mantidos 3 níveis de estresse hídrico 80 % ( $0,202\text{ g g}^{-1}$ ), 50 % ( $0,126\text{ g g}^{-1}$ ) e 30 % ( $0,076\text{ g g}^{-1}$ ) da umidade correspondente a CP. A irrigação foi realizada diariamente por meio de proveta graduada em quantidade correspondente à água perdida por evapotranspiração estimada por meio de pesagens. Procedimento similar de manejo hídrico foi adotado por Araújo et al. (2020)

Além disso, semanalmente era aplicada solução nutritiva (HOAGLAND; ARNON, 1950) (ANEXO IX) como forma de suprir a demanda nutricional das plantas.

### **3.2.6.3 Parâmetros de crescimento e desenvolvimento vegetal**

Aos 50 dias após a semeadura, foram realizadas as estimativas de altura de planta (AP); diâmetro de caule (DC); Massa Fresca da parte aérea (MFPA); Massa seca da parte aérea (MSPA).

### 3.2.7 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi em arranjo fatorial 21 x 3, consistindo de 20 BPCPs e 1 controle sem inoculação, além de 3 níveis de umidade do solo (80 %, 50 % e 30 % da Capacidade de Pote - CP) em blocos ao acaso com 4 repetições, formando um quantitativo de 252 unidades experimentais.

Foi realizada a análise de variância (ANOVA) no software ASSISTAT 7.7 e aplicado a comparação das médias pelo Teste de Scott-Knot ( $p < 0.05$ ). O cluster foi realizado com auxílio do software PAST versão 4.02, para observar os grupos formados a partir das características fenotípicas de cada isolado bacteriano

## 3.3 RESULTADOS

### 3.3.1 Contagem das UFC's prospectadas em solo rizosférico de espécies da Caatinga.

A população bacteriana do solo rizosférico foi estimada a partir dos valores de UFC's após o plaqueamento em meio com baixa atividade de água ( $A_w = 0,957$ ). Para o teste de média de Skott-Knott não houve diferença significativa a 5 % de probabilidade entre a abundância de bactérias cultiváveis em meio de cultura e as espécies vegetais de onde foi coletado o solo.

Os valores da população variaram entre  $3,9 \times 10^4$  e  $2,33 \times 10^2$ , com um valor médio de  $4,96 \times 10^3$ . As espécies *Cnidocolus quercifolius* (Faveleira); *Jatropha curcas* (Pinhão manso) e *Aspidosperma pyrifolium* (Pereiro) apresentaram a maior quantificação de UFC's, sendo atribuídas a esses vegetais 21,18%, 20,52% e 19,52%, respectivamente, do total da população bacteriana rizosférica obtida.

### 3.3.2 Caracterização morfofisiológica dos isolados bacterianos

De acordo com a avaliação dos isolados e realização da caracterização morfofisiológica, foi construído um dendograma, como forma de verificar o agrupamento dos isolados bacterianos em grupos similares (Figura 7).

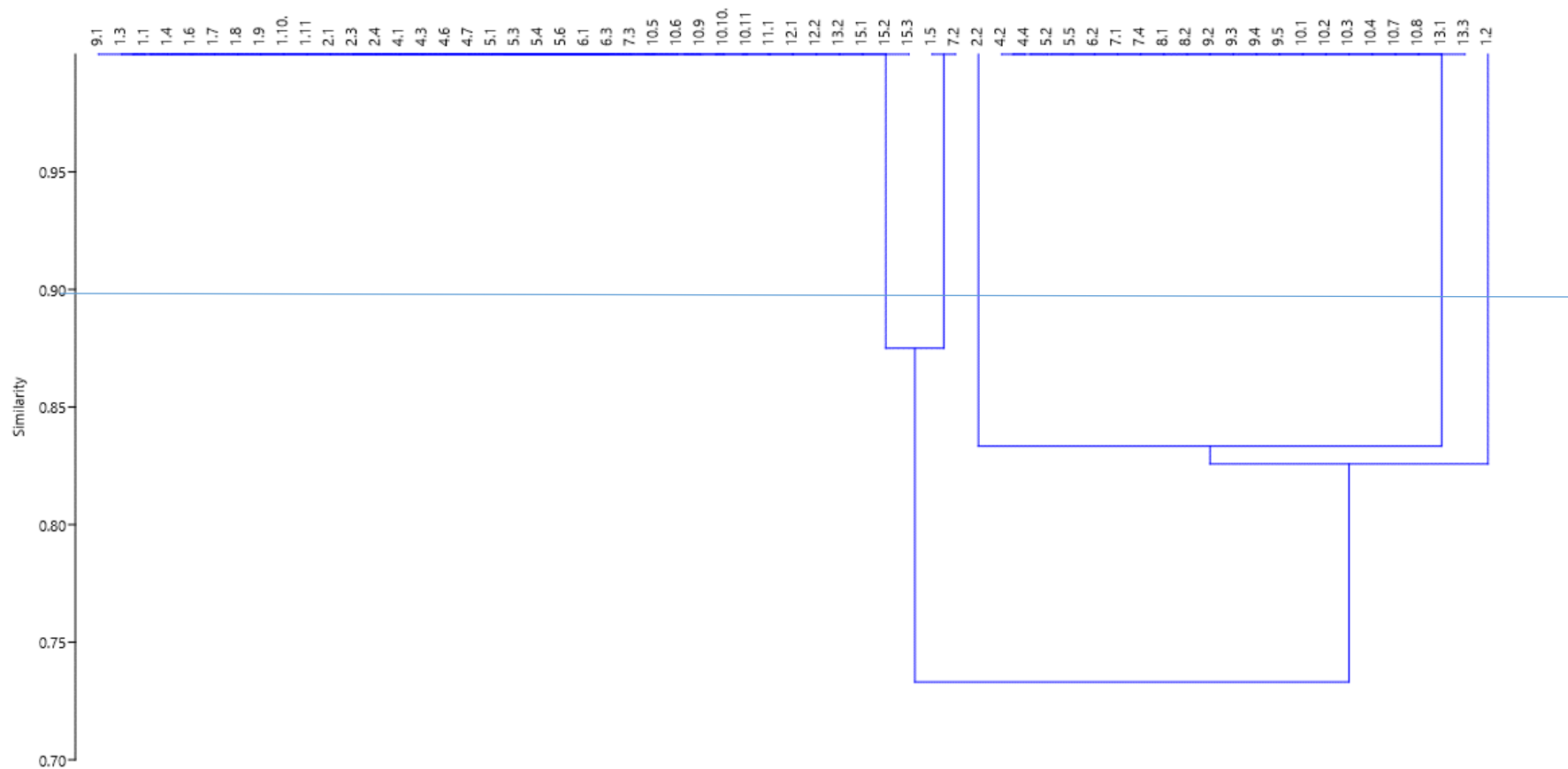
Foram caracterizados um total de 61 bactérias e subdivididas em grupos. O Grupo I formado por: 9.1, 1.3, 1.1, 1.4, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 1.10, 1.11, 2.1, 2.3, 2.4, 4.1, 4.3, 4.6, 4.7, 5.1, 5.3, 5.4, 5.6, 6.1, 6.3, 7.3, 10.5, 10.6, 10.9, 10.10, 10.11, 11.1, 12.1, 12.2, 13.2, 15.1, 15.2, 15.3; Grupo II: 1.5, 7.2; Grupo III: 2.2; Grupo IV: 4.2, 4.4, 5.2, 5.5, 6.2, 7.1, 7.4, 8.1, 8.2, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 10.1, 10.2, 10.3, 10.4, 10.7, 10.8, 13.1, 13.3 e Grupo V: 1.2.

O grupo I e o grupo IV agruparam a maior parte dos isolados em meio de cultura com restrição de água, correspondendo juntos a 93,97 % do total de bactérias prospectadas em solo rizosférico de diferentes espécies vegetais.

As principais características observadas nos microrganismos que compõem o grupo I foram: crescimento rápido (até 24 horas após o plaqueamento) – 82,85 %; forma circular – 54,28 %; opacidade – 80 %; tonalidade creme – 60 %; todas produzem muco – 100 %; a quantidade de muco produzida é média – 48,57 %; apresentam o muco seco – 42,85 % e sem elevações das colônias – 60 %.

O que diferenciou os dois maiores agrupamentos formados foram 3 características morfológicas observadas, a forma, a quantidade e a produção de muco por parte das colônias de bactérias. O grupo IV é formado em sua maioria por bactérias que apresentam forma irregular – 90,91 %; e nenhuma produção de muco - 95,45 %, que por consequência interfere na ótica da quantidade de muco produzida.

Os demais grupos (II, III e V) corresponderam a apenas 6,03 % do total de isolados, isto é, um total de 6 isolados. Sendo desses, o único que obteve expressividade para a condução dos testes em casa de vegetação foi o isolado 7.2.



**Figura 7.** Cluster construído com os isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies da Caatinga, a partir do agrupamento das estirpes que tiveram os mecanismos de promoção de crescimento mais similares

### **3.3.3 Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento em bactérias xerófilas**

Os mecanismos foram realizados em 52 bactérias das 61 anteriormente isoladas, pois algumas colônias, 5.3; 5.4; 5.5; 7.4; 8.1; 7.1; 9.4; 9.5; 10.2; 10.4, não apresentaram vigor para crescimento e desenvolvimento nos testes *in vitro*.

Com relação ao Teste de Gram (Tabela 6; coluna 2), as bactérias isoladas apresentaram a pigmentação roxa devido a formação do complexo CV-I em maior quantidade, totalizando 75,51 % das cepas.

**Tabela 6.** Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento do isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga do Núcleo de desertificação de Cabrobó – PE

Bacteria	GRAM	EPS (mm)	Biofilme 560 nm	Solubilização		AIA ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	ACC	FBN	Halotolerância			CAT	NH <sub>3</sub>
				Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Al(PO <sub>4</sub> )				1M	2,5M	5M		
1.1	+	++ (+)	0.1538 ± 0.02 e	*	*	1.01251± 0.70 e	+	+	+	+	-	++	+++
1.2	*	+(+)	0.1418 ± 0.08 e	*	*	-	-	+	-	-	-	+	+++
1.3	-	+(+)	1.3612 ± 0.07 a	-	1.0733±0.05 ns	-	-	-	-	-	-	+	+++
1.4	+	++ (-)	0.1154 ± 0.04 e	*	*	3.03344±0.43 d	+	-	+	+	-	+	++
1.5	-	++(+)	0.5482 ± 0.20 d	*	*	-	-	+++	-	-	-	+	+++
1.6	+	+++(+)	0.9399 ± 0.21 b	1.1126±0.04 b	*	-	-	+	+	+	-	+	+++
1.7	+	+++(+)	0.7330 ± 0.14 c	1.2529±0.24 b	*	0.11215±0.06 e	+	+	-	-	-	-	+++
1.8	+	+++(+)	1.3065 ± 0.44 a	*	-	-	+	+	+	-	-	++	+++
1.9	*	++(+)	0.1779 ± 0.06 e	*	*	2.99928± 0.41 d	+	+++	+	+	-	+	+++
1.10	+	++(+)	0.5514 ± 0.69 d	*	*	7.2705±2.20 c	-	+	+	+	-	+	++
1.11	+	++(+)	0.1554 ± 0.08 e	*	*	6.6178±0.70 c	+	+	+	-	-	-	++
2.1	+	++(+)	0.6135 ± 0.28 c	*	*	6.9899±2.59 c	-	+++	+	+	-	-	++
2.2	-	+++(+)	1.1931 ± 0.03 a	1.3938±0.16 a	*	-	+	+	-	-	-	-	++
2.3	+	++(+)	0.1049 ± 0.04 e	*	*	12.1845±4.91 c	-	+	+	+	-	+	++
2.4	+	++(+)	0.3816 ± 0.07 d	1.275±0.09 b	*	8.765±1.47 c	+	+	-	-	-	++	++
4.1	+	+++(+)	0.9719 ± 0.00 b	-	-	-	+	+++	-	-	-	++	+++
4.2	+	+++(+)	0.7600 ± 0.19 c	*	-	15.2145±5.94 b	+	+	+	++	-	++	+++
4.3	+	+(+)	0.1103 ± 0.03 e	1.1663±0.16 b	*	-	+	-	-	-	-	-	+++

(Continua)

**Tabela 7.** Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento do isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga do Núcleo de desertificação de Cabrobó – PE

<b>4.4</b>	-	+++(+)	1.0801 ± 0.05 b	1.1670±0.02 b	*	4.1046±4.05 d	+	+	-	-	-	++	++
<b>4.6</b>	+	+++(+)	0.2370± 0.09 e	1.3694±0.15 a	*	-	+	+	-	-	-	++	++
<b>4.7</b>	+	+++(+)	0.6941 ± 0.12 c	1.4123±0.15 a	*	-	+	+	-	-	-	++	+
<b>5.1</b>	+	+++(-)	0.8114 ± 0.29 c	1.3589±0.11 a	*	-	-	+	+	-	-	+	++
<b>5.2</b>	+	+++(+)	0.4371 ± 0.08 d	1.2398±0.11 b	*	-	-	+	+	-	-	-	++
<b>5.6</b>	-	+++(+)	1.2956 ± 0.10 a	*	*	-	-	-	+	+	-	+	++
<b>6.1</b>	+	+++(+)	0.4572 ± 0.18 d	1.0357±0.04 b	*	-	+	+++	+	-	-	++	+++
<b>6.2</b>	-	+++(+)	1.1780 ± 0.09 a	1.1644±0.11 b	*	-	+	+	-	-	-	-	++
<b>6.3</b>	+	+++(-)	0.1523 ± 0.08 e	1.3218±0.14 a	1.0336±0.02 ns	5.7734±0.50 d	+	+	-	-	-	++	+
<b>7.2</b>	+	++(+)	0.1658 ± 0.07 e	-	*	-	+	-	+	+	-	++	-
<b>7.3</b>	+	+(+)	*	-	*	-	-	+++	-	-	-	-	-
<b>8.2</b>	+	+++(+)	0.5272 ± 0.35 d	*	*	-	+	-	+	+	-	++	-
<b>9.1</b>	-	+++(+)	0.6139 ± 0.08 c	1.1081±0.05 b	*	1.74634±0.12 e	+	-	-	-	-	-	-
<b>9.2</b>	+	+++(+)	0.6244 ± 0.10 c	1.2531±0.11 b	*	-	+	-	-	-	-	-	-
<b>9.3</b>	+	+++(+)	0.5521 ± 0.30 d	*	1.1290±0.07 ns	-	+	+++	+	-	-	-	-
<b>10.1</b>	-	+++(-)	0.7052 ± 0.22 c	*	*	-	-	-	+	+	-	-	++
<b>10.3</b>	+	+++(+)	0.2013 ± 0.07 e	1.2367±0.07 b	*	-	+	-	+	-	-	-	+++
<b>10.5</b>	+	+++(+)	0.6669 ± 0.19 c	1.2339±0.08 b	*	-	+	-	-	-	-	-	+++
<b>10.6</b>	-	+++(+)	0.6601 ± 0.44 c	1.1461±0.10 b	*	-	+	-	-	-	-	-	++
<b>10.7</b>	+	+++(+)	0.4891 ± 0.07 d	*	*	-	-	-	+	+	-	-	+
<b>10.8</b>	-	+++(+)	0.2081 ± 0.11 e	*	*	-	+	+++	-	-	-	-	++

(Continua)

**Tabela 8.** Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento do isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga do Núcleo de desertificação de Cabrobó – PE

														(Conclusão)
<b>10.9</b>	+	+++(+)	0.3437 ± 0.10 d	*	*	-	+	+++	+	+	-	-	++	
<b>10.10</b>	+	+(-)	0.2169 ± 0.05 e	*	*	-	+	+	-	-	-	++	++	
<b>10.11</b>	+	++(-)	0.8478 ± 0.39 c	*	*	-	+	+	+	+	-	+	++	
<b>11.1</b>	+	++(+)	0.5778 ± 0.009 d	1.2195±0.09 b	*	-	+	+	-	-	-	+	++	
<b>12.1</b>	+	++(-)	*	-	*	-	-	-	-	-	-	++	++	
<b>12.2</b>	+	+++(+)	0.6270 ± 0.04 c	*	*	-	+	+	-	-	-	+	++	
<b>13.1</b>	-	+++(+)	0.7143 ± 0.33 c	1.2153±0.13 b	*	4.73412±0.26 d	-	-	+	+	-	-	+++	
<b>13.2</b>	+	+(+)	0.6590 ± 0.44 c	*	*	-	+	+	+	-	-	+	++	
<b>13.3</b>	-	+++(+)	0.9407 ± 0.19 b	1.2307±0.09 b	*	-	-	-	-	-	-	++	-	
<b>15.1</b>	+	+++(-)	0.4647 ± 0.01 d	1.0843±0.02 b	*	24.4298±4.22 a	+	+++	+	+	-	-	++	
<b>15.2</b>	+	++(+)	0.6602 ± 0.29 c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
<b>15.3</b>	+	+++(+)	0.4795 ± 0.19 d	1.1510±0.08 b	*	-	+	-	+	-	-	+	+++	

EPS – Exopolissacarídeos, entre parênteses confirmação para o Teste Químico; AIA – Ácido Indolacético; ACC – ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico; FBN – Fixação biológica de nitrogênio; CAT – produção da enzima Catalase; NH<sub>3</sub> – Produção de amônia; \* - Ausência de crescimento de colônia no mecanismo testado



A produção de exopolissacarídeos (EPS) pelas bactérias isoladas da rizosfera das espécies estudadas foi quantificada a partir da formação de halo mucilaginoso ao redor das colônias, podendo observar que 33 isolados positivaram para o teste (Tabela 6; coluna 3). Destas, 81,81 % dos isolados produziram uma quantidade considerável de EPS. É importante salientar que os outros 19 isolados que também foram avaliados negativaram no teste químico que confirma se há produção de EPS ou não, pois apenas a olho nu pode haver diversos falsos positivos para o teste em meio de cultura.

Avaliou-se a formação de biofilme pelas bactérias, e houve efeito significativo ( $p < 0,01$ ) para a quantidade de biofilme aderida nas paredes dos microtubos de poliestireno. A maioria dos isolados apresentou alta e média formação de biofilme, correspondendo a 78,85 % do total avaliado (Tabela 6; coluna 4). Apenas dois isolados (7.3 e 12.1) apresentaram ausência desse mecanismo de crescimento.

Os isolados apresentaram efeito significativo para o teste de solubilização de fosfato de cálcio ( $p < 0,01$ ) e não significativo para fosfato de alumínio ( $p < 0,05$ ). De acordo com o índice de solubilização do ânion fosfato, todas as bactérias estudadas apresentaram um poder de solubilização baixo, seja cálcio ou alumínio (Tabela 6; colunas 5 e 6). Para o fosfato de cálcio, apenas 23 bactérias conseguiram solubilizar, o que corresponde a 44,23 %, menos da metade dos isolados testados. Já o mecanismo de solubilização de fosfato de alumínio apenas 3 isolados apresentaram o desenvolvimento de halo ao redor da colônia, que foram: 1.3; 6.3 e 9.3.

Na produção de AIA por parte das bactérias avaliadas foi observado efeito significativo ( $p < 0,01$ ). A correspondência de 92,85 % dos isolados bacterianos apresentaram alta e média produção de AIA (Tabela 6; coluna 7), o que equivale a 13 dos 14 isolados que desenvolveram aptidão para o mecanismo. Ainda assim, se comparado ao montante de bactérias obtidas, 26,92 % dos isolados é que apresentaram o mecanismo de produção de AIA.

A partir disso se avaliou a produção da 1-amino-1-ciclopropano-carboxilato (ACC), já que o AIA é um precursor da ACC deaminase. Aproximadamente 65 % dos isolados sintetizam a ACC como única fonte de nitrogênio no meio (Tabela 6; coluna 8). Desses, 3 isolados apresentaram destaque para a síntese, estes foram: 4.6; 4.7; 6.3. Foi observado nessas bactérias o desenvolvimento ótimo das colônias nesse meio, evidenciando que elas possuem atividade enzimática da ACC deaminase, a qual participa na clivagem do etileno produzido durante o estresse oxidativo celular.

Para o crescimento das bactérias com potencial fixação assimbiótica de nitrogênio em meio livre desse elemento, 10 isolados apresentaram a densa formação de película no centro dos tubos de penicilina, equivalendo a 19,23 % do total das bactérias isoladas (Tabela 6; colunas 9). Outros 44,23 % das bactérias apresentaram uma formação de película no centro do frasco, porém em menor intensidade que os isolados citados anteriormente.

Outro importante mecanismo a que os isolados foram submetidos a testes *in vitro*, foi o de halofilia e halotolerância em meio de cultura com concentrações crescentes de sal (NaCl) (Tabela 6; colunas 10, 11 e 12). Observou-se que todos (100%) os isolados apresentaram crescimento e desenvolvimento de colônias em meio Ágar – Halofílico, indicando que eles são halofílicos, ou seja, tem afinidade em lugares com teores elevados de sais solúveis no meio. Já para o teste de halotolerância pode-se inferir que 50 % das bactérias isoladas apresentam resistência em meios com concentração de NaCl a 1 M, e que 30,77 % resistem a meios concentrado de NaCl a 2,5 M. As bactérias aqui analisadas não apresentaram desenvolvimento de colônias em meio de cultura com concentração de NaCl a 5 M.

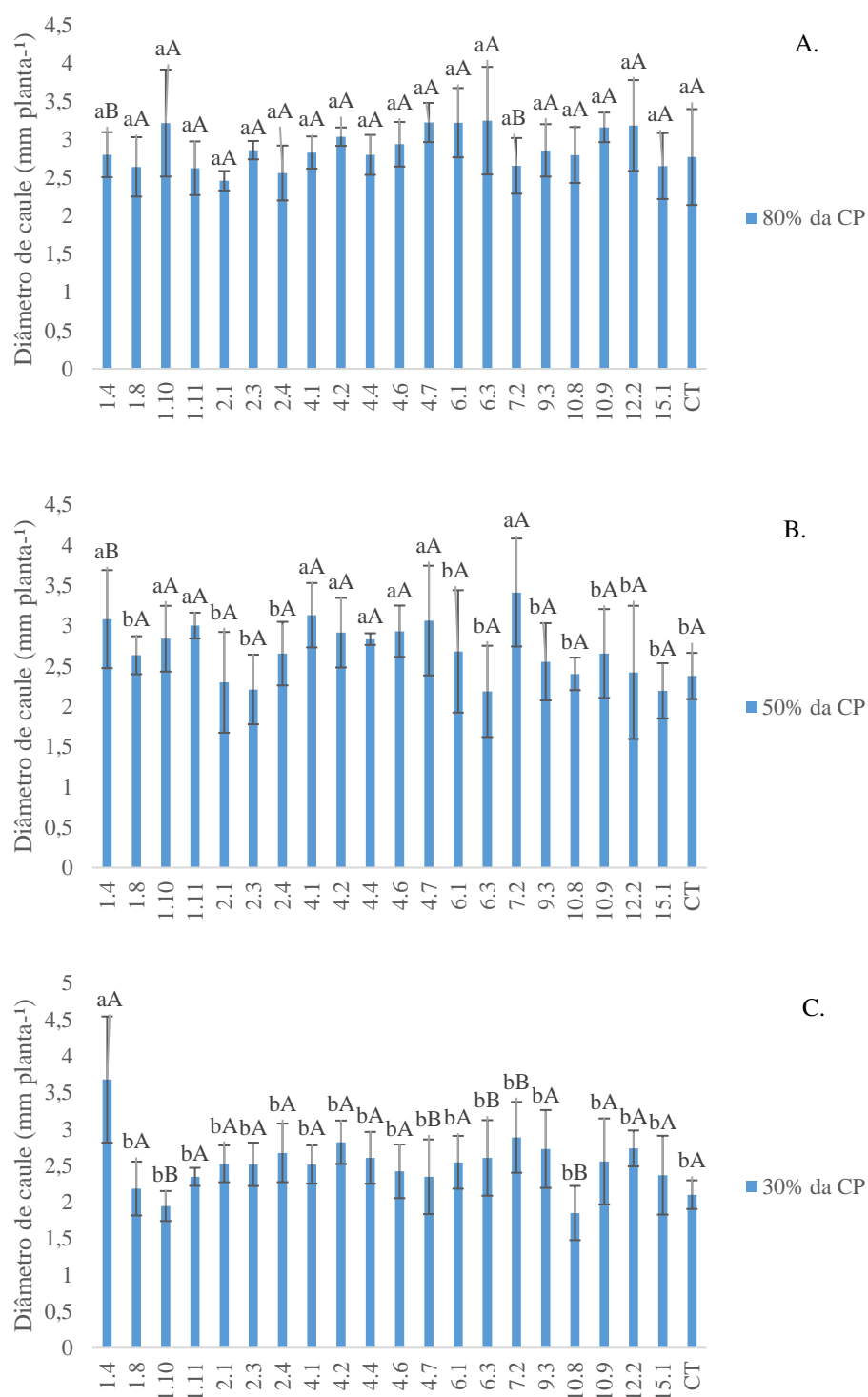
Por se tratar de mecanismos indiretos, um ligado ao alívio do estresse oxidativo e outro com a antibiose a fitopatógenos, foram avaliados a produção da enzima Catalase e de N-Amoniacal pelos microrganismos isolados (Tabela 6; colunas 13 e 14). Aproximadamente 60 % dos isolados foram capazes de produzir catalase, dessas 15 bactérias apresentaram a formação de bolhas gasosas durante o teste, conforme mostrado na figura (6A). A produção de amônia foi elevada em 16 isolados e média para 24 cepas, equivalendo a 30,77 % e 46,15 % do total de bactérias, respectivamente.

### **3.3.4 Promoção de crescimento em *Sorghum Bicolor* [L.] Moech submetido a estresse hídrico**

As BPCPs apresentaram interação significativa com os níveis de umidade ( $p < 0,01$ ) para a avaliação do diâmetro de caule das plantas de sorgo forrageiro (Figura 8). Em comparação realizada entre as plantas inoculadas com as BPCPs e as plantas controle sem inoculação, não foi observada diferença significativa entre as médias dos tratamentos com umidade fixada em 80 % da CP. Já para 50 % e 30 % observa-se diferença entre as médias dos tratamentos inoculados e sem inoculação para esse parâmetro análise biométrica.

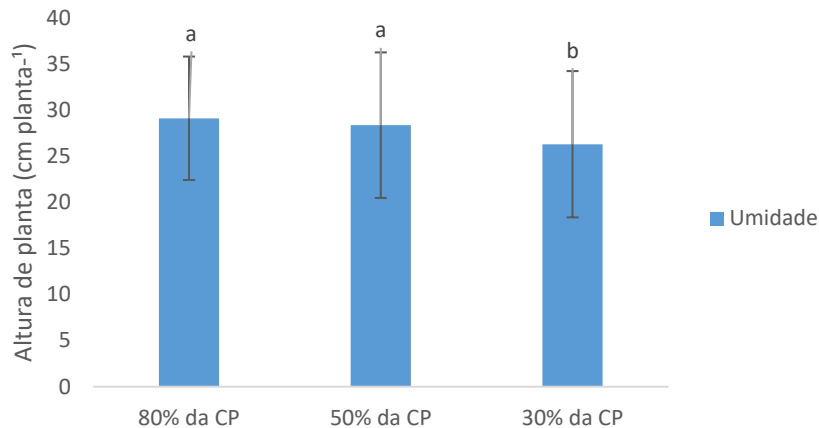
Ao se comparar as médias de diâmetro de caule das plantas inoculadas com a bactéria 1.4 observa-se o maior aumento da espessura do caule do sorgo. Para a umidade de 30 % da CP houve um acréscimo significativo de 75,18 % quando comparado com o controle sem inoculação, nessa mesma umidade (Figura 8 C).

As plantas inoculadas com as bactérias 1.10, 4.7, 6.3, 7.2, 10.8 foram as que apresentaram as menores médias para o parâmetro de diâmetro de caule, isto é, ao se comparar os tratamentos de umidade entre si, observou-se que essas bactérias reduziram a espessura do caule com a diminuição da disponibilidade hídrica do ambiente. No entanto, a bactéria 7.2 apresentou comportamento peculiar ao se avaliar a umidade de 50 % da CP. Observou-se um aumento significativo na espessura do caule das plantas de aproximadamente 57 % e 18 % ao se comparar as plantas com 50 % da CP com as plantas submetidas as umidades de 80 % e 30 %, respectivamente.



**Figura 8.** Média e desvio padrão do diâmetro de caule de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF - 15) inoculados com BCPs e submetidas a estresse hídrico. (Letras minúsculas comparação entre os tratamentos com a inoculação das bactérias; Letras maiúsculas comparação entre os tratamentos com os níveis de umidade a que estava mantido o substrato das plantas. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott – Knott ( $p < 0,05$ )

A altura das plantas de sorgo não apresentou interação significativa entre as BPCPs x umidade, mas houve efeito significativo para o fator umidade isolado ( $p < 0,05$ ) (Figura 9). As plantas de sorgo tiveram sua altura de planta afetada com a redução da disponibilidade de água.

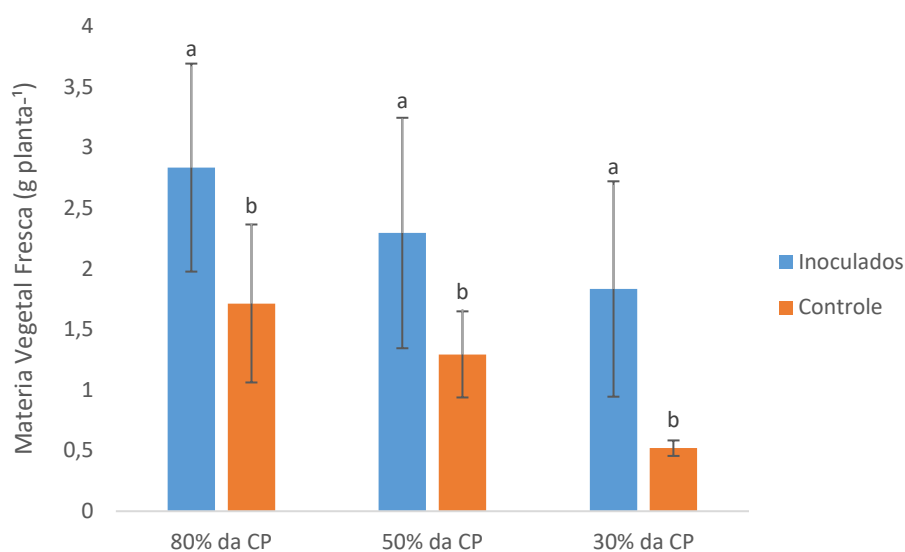


**Figura 9.** Média e desvio padrão da altura de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF - 15) inoculados com BPCP's e submetidas a estresse hídrico. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott – Knott ( $p < 0,05$ )

Não foi observada interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os fatores inoculação *versus* umidade para a massa da matéria vegetal fresca das plantas de sorgo forrageiro. Entretanto, para a umidade quanto fator isolado houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) (Figura 10).

A massa de material fresco apresentou o mesmo comportamento da altura das plantas, onde observou-se redução do parâmetro biométrico com a redução da umidade do substrato. No entanto, o material vegetal apresentou ganho de massa significativo ( $p < 0,05$ ) para todas as umidades das plantas inoculadas quando comparadas com as plantas controle sem inoculação bacteriana.

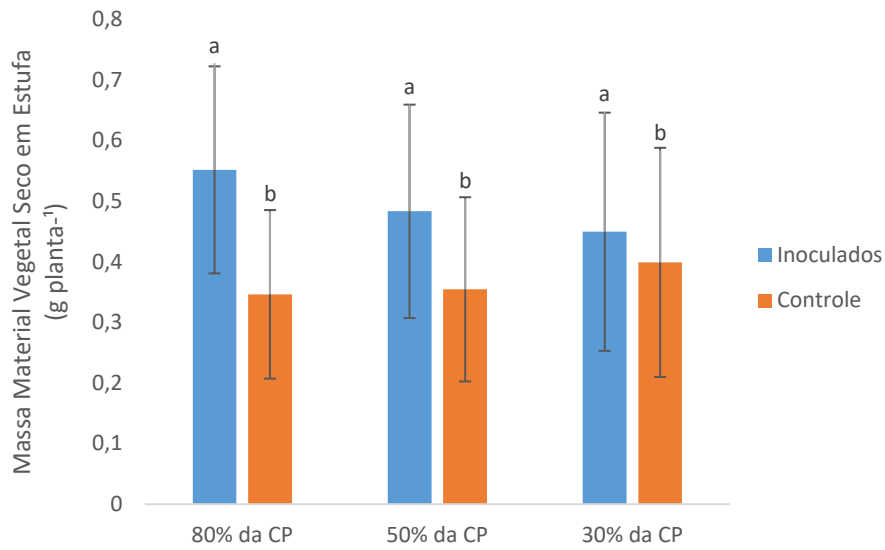
Em comparação com os controles (sem inoculação) 80 % da CP, 50 % da CP e 30 % da CP observa-se que a MFPA das plantas que foram inoculadas com BPCPs aumentou em 51,55 %, 94,46 % e 237,85 %, respectivamente. Isto é, as BPCPs contribuíram com a manutenção hídrica dos tecidos vegetais, refletindo diretamente no ganho de massa fresca da planta.



**Figura 10.** Média e desvio padrão da massa do material vegetal fresco da parte aérea de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF - 15) inoculados com BPCP's e das plantas controle sem inoculação, submetidas a estresse hídrico. (As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott – Knott a 5% de probabilidade)

A massa seca da parte aérea não apresentou interação significativa ( $p < 0.05$ ) para com BPCPs x umidade do solo. Porém, para o fator umidade isoladamente foi observado efeito significativo ( $p < 0,01$ ), ou seja, quanto maior a intensidade do estresse hídrico, menor foi a massa seca da parte aérea (Figura 11).

Pode-se estimar que a contribuição foi positiva e na ordem de 59,31 % (80 % da CP), 36,32 % (50 % da CP) e 12,66 % (30 % da CP) quando se compara a umidade dos tratamentos inoculados com os controles sem inoculação.



**Figura 11.** Média e desvio padrão das médias da massa do material vegetal fresco da parte aérea de plantas de sorgo forrageiro (IPA SF - 15) inoculados com BPCPs e das plantas controle sem inoculação, submetidas a estresse hídrico. (As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott – Knott a 5% de probabilidade)

### 3.4 DISCUSSÃO

#### 3.4.1 UFC's prospectadas em solo rizosférico de espécies endêmicas da caatinga

A prospecção na rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga em meio de cultura com atividade de água reduzida ( $A_w = 0,957$ ) encontrou 61 isolados viáveis. Tal feito, pode atribuir as bactérias encontradas nesse estudo o princípio de tolerância a seca, indicando que as cepas isoladas do sistema radicular de cada espécie endêmica têm características de xerofilia

O crescimento de colônias em meio restritivo com atividade de água reduzida tende a selecionar os isolados mais adaptáveis a condições extremas de seca se tornando um indicativo para a xerofilia. A atividade de água entre 0,957 e 0,844 no meio de cultura restringe o desenvolvimento de bactérias mais sensíveis (KAVAMURA et al., 2013). Ao prospectar bactérias na rizosfera de *Mimosa bimucronata* de uma lagoa temporária no Semiárido brasileiro Araújo et al (2020) encontraram que 30 isolados em meio com  $A_w = 0,957$ .

### 3.4.2 Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento em bactérias xerófilas

Os microrganismos foram prospectados da zona radicular de plantas no Semiárido brasileiro. Nesta região, o acumulado de chuvas anual é de no máximo 600 mm (JACOMINE et al., 1973). Dessa forma, a comunidade que habita a rizosfera dessas plantas tende a ser mais resistente a períodos de seca (JOCHUM et al., 2019). Essa resistência e tolerância provém de mecanismos adaptativos que essas rizobactérias apresentam.

Ao todo, 9 mecanismos de promoção de crescimento foram avaliados (EPS; Biofilme; Solubilização de fosfatos de cálcio e alumínio; AIA; ACC; FBN; Halotolerância; Produção de N-amoniaco; Catalase). As rizobactérias apresentaram taxas que expressam esses mecanismos acima de 50 %, exceto solubilização de fosfato (taxa de solubilização de aproximadamente 40 %), indicando o forte potencial delas para promoção de crescimento de plantas.

As bactérias prospectadas apresentaram alta taxa de substâncias poliméricas extracelulares (81 %) e formação de biofilme intensa (78 %), geralmente esses parâmetros possuem uma correlação positiva pois participam do mesmo complexo de ativação frente a exposição da comunidade bacteriana detentora desse mecanismo a ambientes extremos (KURAMAE et al., 2020). A planta inicia um processo de quimioatração das bactérias a partir da exsudação de moléculas que por afinidade bioquímica faz com que os microrganismos sejam aderidos a superfície radicular, como também penetrem o tecido caso sejam endofíticos (ANSARI et al., 2017).

Os compostos poliméricos extracelulares formam uma camada ao redor do sistema radicular parcialmente regulada pelo *quorum sensing* (QS). Existem diversos sistemas desse tipo de comunicação microbiana, no entanto, a maioria se vale de pequenas moléculas sinalizadoras que direcionam e regem a mobilidade e a composição da população. Após atingir a conformação necessária, a bactéria que iniciou o processo detecta e inicia a regulação gênica de outros mecanismos apostos (SHARMA et al., 2003; KURAMAE et al., 2020).

Ao observar o mecanismo de solubilização de fosfato, o P-Ca foi disponibilizado por aproximadamente 44 % das bactérias isoladas. Percentual semelhante ao observado por Araújo et al. (2020), que isolaram rizobactérias de espécies fixadas em lagoa temporária no Semiárido brasileiro.

Os solos situados na Caatinga, mais precisamente os da classe dos Planossolos, apresentam baixa disponibilidade de fósforo, por estarem uma fração associados à apatita e



outra ao P-Ca (SILVEIRA et al., 2006). Dessa forma, enzimas como, as fosfatases não-específicas, P liases e fosfonatases, expressas pelas bactérias solubilizadoras de fosfato, contribuem com a liberação o ânion fosfato do complexo inorgânico a partir da atuação de ácidos orgânicos, que será absorvido pelas plantas na sua forma disponível (LUGTENBERG; KAMILOVA et al., 2009; CARVALHO et al., 2016).

Além do déficit no macronutriente fósforo, a intensa restrição hídrica torna-se uma barreira natural que impede o crescimento das plantas. Assim, as BPCPs capazes de auxiliar na síntese e produção de fitohormônios, produção de enzimas como a ACC deaminase, trazem contribuições expressivas para o desenvolvimento vegetal.

Das espécies vegetais estudadas, a que apresentou as BPCPs com maior potencial para a síntese de AIA foi a Catingueira. Essa espécie faz parte da família das leguminosas que são conhecidas pela sua relação com a biossíntese de fitohormônios de forma mais intensa (CAMERINI et al., 2008; GLICK et al., 2012). O AIA interfere diretamente nos processos de desenvolvimento das plantas, contribuindo com a divisão e multiplicação celular em diversos processos de crescimento da planta (AHEMAD; KIBRET, 2014). Geralmente é ativado por uma molécula precursora, o triptofano que atua na modulação da biossíntese desse fitohormônio (ZAIDI et al., 2009).

Neste estudo, 11 bactérias apresentaram ambos os mecanismos de produção de síntese de AIA e produção de ACC deaminase, correspondendo a 21 % do total de BPCPs isoladas. O AIA pode estar correlacionado com a expressão do gene ACS que é ativado para induzir a produção de ACC na planta, fornecendo um aporte nutricional para as bactérias que utilizam o 1-aminociclopropano 1 - carboxilato como fonte de nitrogênio (POEL; STRAETEN, 2014; BONATELLI et al., 2021).

### **3.4.3 Promoção de crescimento em *Sorghum bicolor* [L.] Moech submetido a estresse hídrico**

Ao serem selecionadas, 20 bactérias tiveram seu potencial de adaptabilidade e resistência testados como forma de fonte de material biológico para inoculação em *Sorghum bicolor* [L.] Moech. As plantas de sorgo forrageiro, apesar da inoculação, apresentaram redução nos parâmetros de biometria de planta com o aumento da restrição hídrica, exceto para o diâmetro de caule das plantas.

A espessura dos caules dessas plantas aumentou em até 75 % se comparadas com as plantas controle sem inoculação. Fato provavelmente atribuído com a síntese de AIA, produção de ACC deaminase, fixação biológica de nitrogênio, produção de enzimas extracelulares como a catalase e a síntese de N-amoniaco. A bactéria 1.4 foi a que apresentou maior efeito de tratamento para o parâmetro de diâmetro de caule. A bactéria 7.2 apresentou um comportamento peculiar, pois o tratamento com a umidade fixada em 50 % da CP teve um percentual de ganho em espessura de caule maior que as plantas submetidas as umidades de 80% e 30% da CP. Essas bactérias, além de produzir ACC, ainda possui outros mecanismos acessórios, como por exemplo, a síntese de N-amoniaco e a produção de catalase, mecanismos ligados ao alívio do estresse oxidativo e melhora das respostas de crescimento de plantas expostas a agentes ambientais estressores. De qualquer modo é um resultado positivo, pois 50 % e 30 % da umidade na CC são considerados estresses hídricos, quando comparado à 80%.

Em diversas culturas como feijão (KANG et al., 2020), milho (KAVAMURA et al., 2013; JOCHUM et al., 2019; ARAÚJO 2020), girassol (ARIF et al., 2016) e sorgo (ANTUNES et al., 2019; SANTANA et al., 2020), as BPCPs prospectadas na rizosfera de plantas que convivem em ambientes semiáridos apresentaram correspondência com o auxílio do alívio de estresse hídrico (BONATELLI et al., 2021).

Apesar da redução da altura de planta, biomassa seca e fresca das plantas de sorgo inoculadas com o aumento do estresse, um fato importante deve ser destacado: ao se comparar as plantas controle sem inoculação com as plantas que tiveram em seu sistema radicular a inserção de BPCPs, observou-se o desenvolvimento superior das plantas inoculadas. Tal circunstância foi observada principalmente nas plantas com umidade fixada em 30 % da CP, que tiveram um ganho de altura de planta na ordem de 11,27 % e na biomassa das plantas que apresentaram um acréscimo acima de 200 %. Isso evidencia o quanto essas rizobactérias promovem ajustes morfofisiológicos para que a cultura se desenvolva homeostaticamente.

Por se tratar de um estresse agressivo, as plantas podem ter utilizado o aporte de carbono produzido pelas BPCPs modulando o acúmulo de açúcares simples no caule ao invés da produção de biomassa da planta (SANTANA et al., 2020).

As espécies endêmicas da caatinga utilizadas de matrizes para a prospecção dos microrganismos xerófilos, estavam em ambiente degradado já que se tratava de um núcleo de desertificação, e além disso a região de estabelecimento dos vegetais é de baixo índice pluviométrico médio anual e alta demanda evaporativa (JACOMINE et al, 1973).

Sendo assim, as bactérias isoladas, além de resistência e adaptação a ambientes com restrição hídrica conseguem estabelecer uma interação com uma cultura comercial de sequeiro, que é o caso do Sorgo forrageiro. As BPCP's provavelmente contribuíram com a síntese de fitohormônios, formação de biofilme e acúmulo de substâncias poliméricas extracelulares.

Aproximadamente 81 % das bactérias estudadas produzem EPS e outras 78 % atuam formando biofilme. Essa observação é de grande valia pois baliza as bactérias na redução da perda de água pela planta, contribuindo com o equilíbrio do potencial osmótico, reduzindo os danos provocados pelo estresse abiótico.

É importante observar que as práticas de cultivo de uma planta e o seu genótipo pode influenciar a interação microrganismo – planta e seu reflexo no desenvolvimento e crescimento vegetal. Em diferentes genótipos de sorgo inoculados com aproximadamente 180 bactérias prospectadas na rizosfera do próprio sorgo sacarino e em condições de restrição hídrica, que o crescimento é uma consequência multi-fatorial da intra-relação do manejo agrônômico e a planta submetida a esses fatores (HEIJO et al., 2020), confirmando o postulado do nosso estudo científico.

### 3.5 CONCLUSÕES

- As bactérias 1.8, 4.1, 4.2, 4.4, 6.1, 10.9 apresentaram o maior número de mecanismos promotores de crescimento;
- Apesar do decaimento no crescimento e desenvolvimento do sorgo forrageiro devido o estresse hídrico a inoculação de BPCPs, principalmente as 1.4, 4.6, 4.7, 6.3, 7.2 e 15.1, prospectadas em Núcleo de Desertificação no semiárido brasileiro são uma alternativa positiva e sustentável para a cultura do sorgo forrageiro;
- Espécies vegetais estabelecidas na Caatinga, principalmente a *Cnidocolus quercifolius* (Faveleira); *Caesalpinia pyramidalis* (Catingueira); *Jatropha curcas* (Pinhão manso), são uma promissora fonte para a prospecção de microrganismos promotores de crescimento e que contribuam para o alívio de estresses ambientais.

## REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

- ALMEIDA, C. D. F.C. B. R DE, CABRAL, D. L. DE V., ALMEIDA, C. C. B R. DE, AMORIM, E. L. C. DE, ARAÚJO, J. M. DE, ALBUQUERQUE, U. P. DE. Comparative study of the antimicrobial activity of native and exotic plants from the Caatinga and Atlantic Forest selected through an ethnobotanical survey. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 2, p. 201-207, 2012. <doi.org/10.3109/13880209.2011.596205>
- AHEMAD, M., KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King saud University-science**, v. 26, n. 1, p. 1-20, 2014. <doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- ANTUNES GR, SANTANA SRA, ESCOBAR IEC ET AL. SILVA BRASIL, M. DA, DE ARAÚJO, G. G. L., VOLTOLINI, T. V., FERNANDES-JÚNIOR, P. I. Associative diazotrophic bacteria from forage grasses in the Brazilian semiarid region are effective plant growth promoters. **Crop Pasture Science**, v. 70, p.899–907, 2019. <doi.org/10.1071/CP19076>
- ANSARI, F. A., JAFRI, H., AHMAD, I., ABULREESH, H. H. Factors affecting biofilm formation in in vitro and in the rhizosphere. In: Biofilms in plant and soil health. Ahmad, I., & Husain, F. M. (Eds.). Wiley Blackwell, p. 275-290, 2017. <doi.org/10.1002/9781119246329>
- APAC – AGÊNCIA PERNAMBICANA DE ÁGUAS E CLIMA. Monitoramento pluviométrico. 2021. Disponível em <<http://www.sirh.srh.pe.gov.br/apac/meteorologia/monitoramento-pluvio.php>> Acesso em: 20 de dezembro de 2020.
- ARAÚJO, V. L. V. P., JUNIOR, M. A. L., DE SOUZA JÚNIOR, V. S., DE ARAÚJO FILHO, J. C., FRACETTO, F. J. C., ANDREOTE, F. D., FRACETTO, G. G. M. Bacteria from tropical semiarid temporary ponds promote maize growth under hydric stress. **Microbiological Research**, v. 240, p. 126564, 2020. <doi.org/10.1016/j.micres.2020.126564>
- ARIF, M. S., RIAZ, M., SHAHZAD, S. M., YASMEEN, T., AKHTAR, M. J., RIAZ, M. A. Associative interplay of plant growth promoting rhizobacteria (*Pseudomonas aeruginosa* QS40) with nitrogen fertilizers improves sunflower (*Helianthus annuus* L.) productivity and fertility of aridisol. **Applied soil ecology**, v. 108, p. 238-247, 2016. <doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.08.016>
- BARNAWAL, D., BHARTI, N., TRIPATHI, A., PANDEY, S. S., CHANOTIYA, C. S., KALRA, A. ACC-deaminase-producing endophyte *Brachybacterium paraconglomeratum* strain SMR20 ameliorates *Chlorophytum* salinity stress via altering phytohormone generation. **Journal of plant growth regulation**, v. 35, n. 2, p. 553-564, 2016. <doi.org/10.1007/s00344-015-9560-3>
- BISEN, K., KESWANI, C., MISHRA, S., SAXENA, A., RAKSHIT, A., SINGH, H. B. Unrealized potential of seed biopriming for versatile agriculture. In: **Nutrient use efficiency: from basics to advances**. Rakshit, A., Singh, H. B., & Sen, A. (Eds.). New Delhi: Springer India. p. 193-206, 2015. <doi.org/10.1007/978-81-322-2169-2\_13>

BONATELLI, M. L., VIEIRA LACERDA JÚNIOR, G., BUENO DOS REIS JÚNIOR, F., FERNANDES-JÚNIOR, P. I., SOARES MELO, I., QUECINE, M. C. The beneficial plant-associated microorganisms from semi-arid and seasonally dry environments: a review. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 3331, 2020. <doi.org/10.3389/fmicb.2020.553223>

BOTTONE, E. J. The gram stain: the century-old quintessential rapid diagnostic test. **Laboratory Medicine**, v. 19, n. 5, p. 288-291, 1988. <doi.org/10.1093/labmed/19.5.288>

CAMARA, E. R. G., SANTOS, J. C. B., ARAUJO FILHO, J. C., SCHULZE, S. M. B. B., CORREA, M. M., FERREIRA, T. O., SOUSA, J. E. S. de ; SOUZA JÚNIOR, V. S de . Parent rock–pedogenesis relationship: How the weathering of metamorphic rocks influences the genesis of Planosols and Luvisols under a semiarid climate in NE Brazil. **Geoderma**, v. 385, p. 114878, 2021. <doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114878>

CAMERINI, S., SENATORE, B., LONARDO, E., IMPERLINI, E., BIANCO, C., MOSCHETTI, G. DEFEZ, R. Introduction of a novel pathway for IAA biosynthesis to rhizobia alters vetch root nodule development. **Archives of Microbiology**, v. 190, n. 1, p. 67-77, 2008. <doi.org/10.1007/s00203-008-0365-7>

CAPPUCCINO, J. G., SHERMAN, N. **Microbiology: A laboratory manual**. 10 th ed. Boston, MA: Pearson/Benjamim Cummmings. p. 516, 2014.

CARVALHO, R. M. M., DA SILVA, M. R., DE CARVALHO, F. C. T., REBOUÇAS, R. H., DE SOUSA, O. D. S. V. Bactérias solubilizadoras de fosfato em solo rizosférico da caatinga. **Revista Geonorte**, v. 7, n. 26, p. 48-60, 2016. (ISSN 2237-1419)

DÖBEREINER, J., BALDANI, V.L.D., BALDANI, J.I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Brasília, DF, Embrapa-SPI. 1995.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Manual de métodos de análise de solo. 5. Ed. Ver. Atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2018.

FISCHER, D., PFITZNER, B., SCHMID, M., SIMÕES-ARAÚJO, J. L., REIS, V. M., PEREIRA, W., HARTMANN, A. Molecular characterisation of the diazotrophic bacterial community in uninoculated and inoculated field-grown sugarcane (*Saccharum* sp.). **Plant and Soil**, v. 356, n. 1, p. 83-99, 2012. <doi.org/10.1007/s11104-011-0812-0>

GIULIETTI, A. M.; NETA, A. L. du B.; CASTRO, A. A. J. F.; GAMARA-ROJAS, C.F.L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; VIRGÍNIO, J.F.; QUEIROZ, L.P. de; FIGUEIREDO, M. A.; RODAL, M. de J. N.; BARBOSA, M. R. de V.; HARLEY, R. M. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. T.; LINS, L. V. (Org.). *Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, 2003. 382 p.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v. 2012. 15 p. 2012. <doi.org/10.6064/2012/963401>

GORDON, S. A., WEBER, R. P. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. **Plant physiology**, v. 26, n. 1, p. 192, 1951. <doi.org/10.1104/pp.26.1.192>

GUIMARÃES, D. P., COSTA, F. A. A., RODRIGUES, M. I., MAUGERI, F. Optimization of dextran synthesis and acidic hydrolysis by surface response analysis. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 16, n. 2, p. 129-139, 1999. <doi.org/10.1590/S0104-66321999000200004>

HAMMER, D. A.T., HARPER, D. A., RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. . *Palaeontologia Electronica*, v. 4, n. 1, 9p. 2001.

HARA, F. A. dos S., OLIVEIRA, L. A. de. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazônica**, v. 34, n. 3, p. 343-357, 2004. <doi.org/10.1590/S0044-59672004000300002>

HASANUZZAMAN, M., NAHAR, K., ANEE, T. I., KHAN, M. I. R., FUJITA, M. Silicon-mediated regulation of antioxidant defense and glyoxalase systems confers drought stress tolerance in *Brassica napus* L. **South African Journal of Botany**, v. 115, p. 50-57, 2018. <doi.org/10.1016/j.sajb.2017.12.006>

HARTMANN, A., SINGH, M., KLINGMÜLLER, W. Isolation and characterization of *Azospirillum mutants* excreting high amounts of indoleacetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 29, n. 8, p. 916-923, 1983. <doi.org/10.1139/m83-147>

HEIJO, G., TAULÉ, C., MAREQUE, C., STEFANELLO, A., SOUZA, E. M., BATTISTONI, F. Interaction among endophytic bacteria, sweet sorghum (*Sorghum bicolor*) cultivars and chemical nitrogen fertilization. **FEMS Microbiology Ecology**. v. 97, n. 2, p. <916-923, 2021. doi.org/10.1093/femsec/fiaa245>

HOAGLAND, D.R., ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. **California agricultural experiment station**, California, v. 347, 2 ed. 1950. 32 p.

HUNGRIA, M., ARAUJO, R. S. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília, DF: Embrapa-Serviço de Produção e Informação. 1994.

HUNGRIA, M., CAMPO, R. J., SOUZA, E. M. PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331, 413-425, 2010. <doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>

JACOMINE, P. K. T.; CAVALCANTI, A. C.; BURGOS, N.; PESSOA, S. C. P.; SILVEIRA, C. O. da. Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do estado de Pernambuco. SUDENE-DRN; Brasília, DF: Divisão de Pesquisa Pedológica, 1973. 359p.

JOCHUM, M.D., MCWILLIAMS, K.L., BORREGO, E.J., KOLOMIETS, M.V., NIU, G., PIERSON, E.A., JO, Y.K. Bioprospecting plant growth-promoting rhizobacteria that mitigate drought stress in grasses. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2106, 2019. <doi.org/10.3389/fmicb.2019.02106>

KANG, S. M., ADHIKARI, A., LEE, K. E., KHAN, M. A., KHAN, A. L., SHAHZAD, R., LEE, I. J. Inoculation with Indole-3-acetic acid-producing rhizospheric *Rhodobacter sphaeroides* KE149 augments growth of adzuki bean plants under water stress. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 717-725, 2020.

<doi.org/10.4014/jmb.1911.11063>

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. S. da; PARMA, M. M.; ÁVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, T.D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. de. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought.

**Microbiological Research**, Jena, v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013.

<doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002>

KHAN, M. S., ZAIDI, A., AHMED, M., OVES, M., WANI, P. A. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi—current perspective. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 56, n. 1, p. 73-98, 2010. <doi.org/10.1080/03650340902806469>

KING, E.O., WARD, M.K., RANEY, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 44, n. 2, p. 301-307, 1954. <doi.org/10.5555/urj:pii:0-2221435490222X>

KURAMAE, E. E., DERKSEN, S., SCHLEMPER, T. R., DIMITROV, M. R., COSTA, O. Y., DA SILVEIRA, A. P. Sorghum growth promotion by *Paraburkholderia tropica* and *Herbaspirillum frisingense*: putative mechanisms revealed by genomics and metagenomics. **Microorganisms**, v. 8, n. 5, p. 725, 2020.

<doi.org/10.3390/microorganisms8050725>

LUGTENBERG, B., KAMILOVA, F. Plant-growth-promoting rhizobacteria. **Annual review of microbiology**, v. 63, p. 541-556, 2009.

<doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>

NGUMBI E., KLOEPFER J. Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 109-125, 2016.

<doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.009>

OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G., FERRAZ, C. A. A., PONTES, M. C., CAVALCANTE, N. B., DA CRUZ ARAUJO, E. C., DE OLIVEIRA, A. P., SILVA ALMEIDA, J. R. G. Antibacterial activity of terpenoids isolated from *Cnidoscolus quercifolius* Pohl (Euphorbiaceae), a Brazilian medicinal plant from Caatinga biome, **European Journal of Integrative Medicine**, v. 24, p. 30-34, 2018. <doi.org/10.1016/j.eujim.2018.10.011>

O'TOOLE, G. A.; KOLTER, R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. **Molecular microbiology**, v. 28, n. 3, p. 449-461, 1998. <doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>

PAULO, E.M., VASCONCELOS, M.P., OLIVEIRA, I.S., AFFE, H.M.J., NASCIMENTO, R., MELO, I.S., ROQUE, M.R.A., ASSIS, S.A. An alternative method for screening lactic acid bacteria for the production of exopolysaccharides with rapid confirmation. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 4, p. 710-714, 2012. <dx.doi.org/10.1590/S0101-20612012005000094>



PENROSE, D.M., GLICK, B.R. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. **Physiologia plantarum**, v. 118, n. 1, p. 10-15, 2003. <doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>

POEL, B. V. DE, STRAETEN, D. V. D. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: more than just the precursor of ethylene. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 640, 2014. <doi.org/10.3389/fpls.2014.00640>

SANTANA, S. R. A., VOLTOLINI, T. V., dos REIS ANTUNES, G., da SILVA, V. M., SIMÕES, W. L., MORGANTE, C. V., FREITAS, A. D. S. de, CHAVES, A. R. de M., AIDAR, S. de T., FERNANDES-JÚNIOR, P. I. Inoculation of plant growth-promoting bacteria attenuates the negative effects of drought on sorghum. **Archives of microbiology**, v. 202, p. 1015 - 1024, 2020. <doi.org/10.1007/s00203-020-01810-5>

SHARMA, A., SAHGAL, M., JOHRI, B. N. Microbial communication in the rhizosphere: Operation of quorum sensing. **Current Science**, Patnagar, v. 85, n. 8, p. 1164-1172, 2003.

SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. *Afr. J. Agric. Res*, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016. <doi.org/10.5897/AJAR2016.11522>

SILVA FILHO, G. N., VIDOR, C. Solubilização de fostatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 311-319, 2000. <dx.doi.org/10.1590/S0100-06832000000200008>

SILVA, I. L DA., COEL, L. C. B. B., DA SILVA, L. A. D. O. Biotechnological potential of the Brazilian Caatinga biome. **Advances in Research**, v. 5, n. 1, p. 1-17, 2015. <doi.org/10.9734/AIR/2015/17426>

SILVEIRA, M. M. L. DA; ARAUJO, M. DO S. B., SAMPAIO, E. V. DE S. B. Distribuição de fósforo em diferentes ordens de solo do semi-árido da Paraíba e de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 2, p. 281-291, 2006. <doi.org/10.1590/S0100-06832006000200009>

SINGH, M., SINGH, D., GUPTA, A., PANDEY, K. D., SINGH, P. K., KUMAR, A. Plant growth promoting rhizobacteria: application in biofertilizers and biocontrol of phytopathogens. In: **PGPR amelioration in sustainable agriculture**. SINGH, R., KUMAR, A., SINGH, M., PANDEY, K. D. (Eds). Woodhead Publishing, 2019. p. 41-66. <doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00003-3>

SOOD, C. R., CHANDA, S. V., SINGH, Y. D. Effect of different nitrogen sources and plant growth regulators on glutamine synthetase and glutamate synthase activities of radish cotyledons. **Bulgarian Journal Plant Physiology**, Sofia, v. 28, p. 46-56, 2002.

SPOLAOR, L. T., GONÇALVES, L. S. A., SANTOS, O. J. A. P. D., OLIVEIRA, A. L. M. D., SCAPIM, C. A., BERTAGNA, F. A. B., KUKI, M. C. Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 33-40, 2016. <doi.org/10.1590/1678-4499.330>

VAN ES, H. A new definition of soil. Soil Science Society of America – SSSA. 2017. 2p. <doi.org/10.2134/csa2017.62.1016>

VERMA, A., KUKREJA, K., PATHAK, D., SUNEJA, S., NARULA, N. In vitro production of plant growth regulators (PGRs). **Indian Journal Microbiology**, v. 41, p. 305-307, 2001.

VINOTHINI, S., HUSSAIN, A. J., JAYAPRAKASHVEL, M. Bioprospecting of Halotolerant Marine Bacteria from the Kelambakkam and Marakkanam Salterns, India for Wastewater Treatment of Plant Growth Promotion. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v. 11, p. 313-321, 2014. <dx.doi.org/10.13005/bbra/1425>

ZAIDI, A., KHAN, M., AHMED, M., OVES, M. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. **Acta microbiologica et immunologica Hungarica**, v. 56, n. 3, p. 263-284, 2009. doi.org/10.1556/amicr.56.2009.3.

## **CAPÍTULO 3**

---

---

### **FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA A E PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM SORGO INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS CULTIVADO SOB ESTRESSE HÍDRICO**

## **Fluorescência da clorofila a e Pigmentos fotossintéticos em Sorgo [*Sorghum bicolor* ( L.) Moech] inoculadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas submetidas a estresse hídrico**

### **RESUMO**

Diante de um panorama mundial de mudanças climáticas e irregularidade nos regimes de chuva, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégias sustentáveis para a produção de alimentos. A rizosfera é uma verdadeira biblioteca genômica, armazenando os mais diversos tipos de mecanismos diretos e indiretos de mitigação a estresses ambientais em seus habitantes. Com isso, bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) foram prospectadas na rizosfera de cinco espécies (*Cnidocolus quercifolius* (Faveleira); *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz (Catingueira); *Aspidosperma pyriforme* (Pereiro); *Sida galheirensis* (Malva Branca); *Jatropha curcas* (Pinhão Manso)) no Núcleo de desertificação de Cabrobó no Semiárido brasileiro. De um total de 60 bactérias isoladas em meio de cultura com restrição na atividade de água ( $A_w = 0,957$ ), foram selecionadas 20 bactérias que apresentaram o maior número de mecanismos de promoção de crescimento e inoculadas em plantas de Sorgo Forrageiro (IPA- SF – 15) com umidade fixada em 80 %, 50 % e 30 % da capacidade de pote (CP). Os teores de pigmentos fotossintéticos foliares e parâmetros da emissão da fluorescência da clorofila a (Fluorescência inicial [ $F_0$ ]; Fluorescência variável [ $F_v$ ]; Fluorescência máxima [ $F_m$ ]; Fluxo de elétrons do PSII [ $F_v/F_m$ ]; Eficiência quântica por centro de reação [ $E_{t0}/CR$ ]) foram avaliados. A inoculação com a bactéria 2.3 favoreceu a um aumento no teor de clorofila a de 45 % no tratamento de 30 % da CP em comparação às plantas inoculadas com essa bactéria e umidade de 80 % da CP. A clorofila b teve um acúmulo de aproximadamente 80% para as plantas inoculadas com a bactéria 2.4 (30 % da CP) ao se comparar com as plantas com umidade de 80 % da CP. Os teores de carotenoides aumentaram em até 8 vezes em comparação ao controle sem inoculação para a bactéria 10.8. Para os parâmetros de fluorescência, as bactérias identificadas como 1.10, 4.2, 6.3 e 7.2 apresentaram a maior preservação das membranas e moléculas do aparato fotossintético, mesmo que as plantas estivessem sob condições de déficit hídrico mais intenso (30 % da CP). Diante disso, a inoculação com BPCPs, principalmente as bactérias 1.10, 1.11, 2.3, 2.4, 4.2, 6.1, 6.3, 7.2, 10.8 garantiu a estabilização e manutenção das organelas proporcionando maior eficiência fotoquímica. Isto implica na evidência que ambientes extremos ou perturbados são importantes quanto fonte de inóculos para mitigação dos efeitos deletérios do estresse em plantas.

**Palavras-chave:** Ecofisiologia do estresse. Fotossíntese. Rizobactérias. Rizosfera. Seca. Caatinga.

## Fluorescence of chlorophyll a and photosynthetic pigments in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] inoculated with plant growth promoting bacteria submitted to water stress

### ABSTRACT

In face of with a global panorama of climate change and irregular rainfall patterns, it is necessary to develop sustainable strategies for food production. The rhizosphere is a true genomic library, storing the most diverse types of direct and indirect mechanisms to mitigate environmental stresses in its inhabitants. As a result, plant growth-promoting bacteria (PGPBs) were prospected in the rhizosphere of five species (*Cnidoscopus quercifolius* (Faveleira); *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz (Catingueira); *Aspidosperma pyriforme* (Pereiro); *Sida galheirensis* (Malva Branca); *Jatropha curcas* (Pinhão Manso)) in the Cabrobó desertification center in the Brazilian semiarid region. From a total of 60 bacteria isolated in culture medium with restriction in water activity ( $A_w = 0.957$ ), 20 bacteria were selected, which presented the highest number of growth promotion mechanisms and inoculated in Forage Sorghum plants (IPA-SF - 15) subjected to a water deficit of 80%, 50% and 30% of the pot capacity (PC). The levels of foliar photosynthetic pigments and emission parameters of chlorophyll a fluorescence (Initial fluorescence [ $F_0$ ]; Variable fluorescence [ $F_v$ ]; Maximum fluorescence [ $F_m$ ]; Electron flow of PSII [ $F_v / F_m$ ]; Quantum efficiency by center of reaction [ $E_{t0} / CR$ ]) were evaluated. Inoculation with bacterium 2.3 favored an increase in chlorophyll content of 45% in the treatment of 30% of PC compared to plants inoculated with this bacterium and humidity of 80% of PC. Chlorophyll b had an accumulation of approximately 80% for plants inoculated with bacterium 2.4 (30% of PC) when compared to plants with humidity of 80% of PC. The carotenoid content increased by up to 8 times its content compared to the control without inoculation for the bacterium 10.8. For the fluorescence parameters, the bacteria identified as 1.10, 4.2, 6.3 and 7.2 showed the greatest preservation of the membranes and molecules of the photosynthetic apparatus, even if the plants were under conditions of more intense water deficit (30% of PC). Therefore, the use of PGPBs, mainly bacteria 1.10, 1.11, 2.3, 2.4, 4.2, 6.1, 6.3, 7.2, 10.8, guaranteed the stabilization and maintenance of the organelles providing greater photochemical efficiency. It implies the evidence that extreme or disturbed environments are important as a source of inoculants to mitigate the harmful effects of stress on plants.

Keywords: Ecophysiology. Photosynthesis. Rhizobacteria. Rhizosphere. Drought. Semiarid.

## 4.1 INTRODUÇÃO

A humanidade está exigindo cada dia mais dos recursos naturais para manter a sobrevivência no planeta, o que sobrecarrega os ecossistemas e causa alterações climáticas severas (MCNEAR JR, 2013). Uma das alternativas para mitigar os efeitos deletérios das mudanças climáticas globais é a prospecção de microrganismos na rizosfera de plantas em ambientes afetados por algum agente estressor, como por exemplo, a seca, salinidade ou temperatura (ARAÚJO et al., 2020; MUKHTAR et al., 2020; ALKAHTANI et al., 2020).

A rizosfera é a zona de interface entre a planta e o solo (HILTNER, 1904), onde os processos biogeoquímicos ocorrem de forma intensa. Essa região estacionária é extremamente rica no aporte de compostos orgânicos de alto e baixo peso molecular, fazendo com que exista uma grande diversidade de microrganismos (MCNEAR JR, 2013) onde, a interação deles com os metabólitos gerados na rizosfera condiciona a comunidade microbiana rizosférica.

A colonização com diversas espécies de rizobactérias, além de contribuir com o crescimento e desenvolvimento, auxilia também na adequação do vegetal às condições ambientais adversas (PRIYA; PATIL; KUMAR, 2016; GOVINDASAMY et al., 2017; TULU 2020). Existem muitas cepas de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP's), pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Rhizobium* e *Serratia*, que podem ser usadas para melhorar o crescimento das plantas mesmo sob vários fatores de estresse (XU et al., 2018; ALKAHTANI et al., 2020).

Em regiões áridas e semiáridas, o uso de BPCPs tem sido difundido como forma de atenuar os efeitos provocados pelos estresses bióticos e abióticos (SHAMAR; SHAMAR, 2017; FRACASSO et al., 2017), por meio de sinalização de cascatas de fitohormônios e exsudatos radiculares que formam uma espécie de zona limiar de alívio dos danos provocados nas espécies vegetais cultivadas ou endêmicas dessas regiões (KAUSHAL; WANI, 2016) Dessa forma, se faz necessário uma força tarefa científica para ampliar cada vez mais o entendimento da interação entre os microrganismos no alívio do estresse provocado nos ecossistemas, principalmente observações científicas que visam o equilíbrio natural a partir da preservação das comunidades e populações que os habitam, em conjunto com a inoculação em *commodities* agrícolas.

Uma cultura agrícola que apresenta uma potencialidade produtiva expressiva em regiões semiáridas é o sorgo, pois possui tolerância a diversos estresses abióticos, sendo o principal

deles a seca (SCHITTENHELM; SCHROETTER, 2014; CLOUTIER et al., 2020). Em 2020/21 estima-se que a produtividade dessa cultura aumente em 2,4% (FAO, 2020), consolidando o 5º lugar de cereal mais produzido a nível mundial.

Devido a expressividade do sorgo, diversos estudos envolvendo biotecnologia vem sendo desenvolvidos, como por exemplo, a prospecção de rizobactérias que podem contribuir na formulação de um bioherbicida (TULU, 2020), avaliação do comportamento da comunidade microbiana radicular na presença de estresse ambiental (XU et al., 2018), avaliação da co-inoculação de BPCPs e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no desenvolvimento das plantas (KUMAR et al., 2012), estimativa da correlação entre a produção de metabólitos secundários exsudados pelo sistema radicular e a flutuação da comunidade microbiana (CLOUTIER et al., (2020). Além disso, existe a contribuição na observação da comunicação entre planta-microrganismo através da cascata de moduladores hormonais que sinaliza ao microcosmos edáfico sobre a necessidade de ativação dos diversos mecanismos de alívio do estresse, a clivagem do etileno, até a ativação de genes para a produção de substâncias captadoras de sideróforo-ferro e outros íons metálicos (PAGE, 2013; KAVADIA et al., 2020).

Em situações de restrição hídrica severa, a homeostase fisiológica da planta é comprometida, surgindo diversas disfunções, principalmente interligadas a liberação de espécies reativas de oxigênio (ERO's). Esse estresse secundário também denominado de oxidativo pode provocar alterações em lipídeos, proteínas e membranas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; XU et al., 2018). Diante disso, estudos que avaliaram as respostas morfofisiológicas em diversas espécies de plantas inoculadas com BPCPs, tais como milho (KHAN et al., 2020), sorgo (ZHANG et al., 2019), trigo (JOCHUM et al., 2019) e pimentão (ALKAHTANI et al., 2020) submetidas a déficit hídrico apontaram ganhos consideráveis no crescimento e desenvolvimento das culturas, principalmente na preservação dos pigmentos fotossintéticos. Esses resultados apontam como uma proposta promissora para adaptação de culturas agrícolas em áreas vulneráveis a atuação de fenômenos climatológicos intensos, como a seca por períodos mais longos.

É importante que para o aumento da resiliência do ecossistema exista a construção de um ambiente edáfico saudável frente a submissão a eventos climáticos extremos. Isso vai desde a preservação da cobertura vegetal até a utilização da biotecnologia, prezando sempre pela maior especificidade do agente mitigador com a região afetada pelos efeitos danosos (TIRADO; COTTER, 2010; OMOTAYO; BABALOLA et al., 2021). Assim sendo, a bioprospecção de rizobactérias com mecanismos de promoção de crescimento e alívio de estresse em plantas em

Núcleo de Desertificação no Semiárido brasileiro foi realizada e posteriormente inoculadas em plantas de sorgo, com a finalidade de avaliar a potencialidade das bactérias na performance dos parâmetros fisiológicos do aparato fotossintético quando a cultura estiver submetida a restrição hídrica.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Caracterização da área de coleta do solo rizosférico e espécies endêmicas da Caatinga.

Os solos foram coletados em duas áreas na cidade de Belém de São Francisco (8°45'57''S e 38°57'45''W), próximo ao Assentamento de Manga de Baixo, na mesorregião do sertão do estado de Pernambuco em abril de 2019. Os solos foram classificados em Planossolo Háptico (PH-1) (8°42'08''S e 38°51'39''W) e Planossolo Nátrico (PN-2) (8°44'20''S e 38°51'19''W) de acordo com classificação da Embrapa (2018) e descritos em Camara et al. (2021).

Segundo a classificação de Köppen o clima da região é do tipo BShw', semiárido quente com temperatura média anual de 26 °C, pluviometria acumulada em 2019 de 325,7mm (APAC, 2021) e evapotranspiração de referência com média anual de 2.100 mm (JACOMINE et al., 1973). A área é coberta por vegetação caducifólia espinhosa de porte baixo e pouco densa. A flora é ainda pouco conhecida (GIULIETTI et al., 2003). A partir da maior repetição na paisagem, foram selecionadas as 5 espécies que são: (*Cnidocolus quercifolius* (Faveleira); *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L. P. Queiroz (Catingueira); *Aspidosperma pyrifolium* (Pereiro); *Sida galheirensis* (Malva Branca); *Jatropha curcas* (Pinhão Manso).

Em campo foram escolhidas de forma aleatória 3 indivíduos de cada espécie que tiveram seu solo rizosférico coletado, seco ao ar e tamizado em peneira de 2 mm (TFSA). Após isso foram caracterizados física (Tabela 1) e quimicamente (Tabela 2) de acordo com EMBRAPA (2018) e conforme descrição no capítulo anterior.

Na caracterização física (Tabela 1) determinaram-se a granulometria e a argila dispersa em água na terra fina seca ao ar (TFSA) a partir do método do densímetro; densidade do solo (método do torrão parafinado) (EMBRAPA, 2018). A caracterização química (Tabela 2)



realizou-se, na TFSA, o pH na relação solo : água, na proporção 1: 2.5; os cátions trocáveis ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ), os cátions divalentes foram extraídos em KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e os cátions monovalentes foram extraídos na presença de uma solução duplo ácida (Melich – 1) (EMBRAPA, 2018). A soma de bases (SB) e a percentagem de Sódio trocável (PST) foram calculados a partir dos valores obtidos no complexo sortivo.

**Tabela 1.** Caracterização física do solo rizosférico coletado na profundidade de 0 – 20 cm, por espécie da Caatinga do Núcleo de Desertificação de Cabrobó.

Espécies	Ds (Kg dm <sup>-3</sup> )	Composição granulométrica da TFSA (g Kg <sup>-1</sup> )			ADA (g Kg <sup>-1</sup> )	GF (%)	GD
		AT (2 - 0.05 mm)	Silte (0.05 - 0.002 mm)	Argila (<0.002mm)			
<i>Cnidoscolus quercifolius</i>		611.56	302.63	85.82	57	34	66
<i>Caesalpinia pyramidalis</i>		727.37	207.89	64.74	43	33	67
<i>Aspidosperma pyrifolium</i>	1.77±0.05	719.12	224.25	56.63	43	23	77
<i>Sida galheirensis</i>		826.01	114.69	59.30	50	16	84
<i>Jatropha curcas</i>		678.22	257.84	63.95	43	32	68

TFSA – Terra fina seca ao ar; Ds – Densidade do Solo (com desvio padrão); AT – Areia total; ADA – Argila dispersa em Água; GF – Grau de Flocculação; Grau de Dispersão

**Tabela 2.** Caracterização química do solo coletado na rizosfera de plantas da Caatinga do Núcleo de Desertificação de Cabrobó

Espécies	pH água (1:2,5)	Ca	Mg	Na	K	SB	H+Al	CTC	PST (%)
<i>Cnidoscolus quercifolius</i>	7.25	3.32	0.50	0.08	0.11	4.01	0.93	4.94	1.54
<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	7.29	2.80	0.40	0.11	0.08	3.39	1.03	4.42	2.42
<i>Aspidosperma pyrifolium</i>	6.85	2.73	0.36	0.07	0.11	3.27	2.10	5.37	1.29
<i>Sida galheirensis</i>	7.46	3.01	0.44	0.10	0.10	3.64	1.50	5.14	1.85
<i>Jatropha curcas</i>	8.17	4.59	0.68	0.09	0.15	5.51	0.97	6.48	1.44

SB – Soma de bases (SB = Ca + Mg + Na + K); CTC – Capacidade de troca catiônica (CTC = SB + (Al + H)); PST – Porcentual de sódio trocável (PST = (100\*Na+)/CTC)

#### 4.2.2 Isolamento e purificação das bactérias promotores de crescimento

Na área de coleta foram selecionadas aleatoriamente 3 indivíduos de cada espécie e coletado o solo rizosférico, tamizado em malha 4 mm e armazenado a -10°C até a realização das análises. A partir desse material, 60 isolados foram obtidos em meio King B (KING; WARD; RANEY, 1954) (ANEXO I) com atividade de água reduzida ( $A_w = 0,957$ ), sendo avaliado dessas cepas os principais mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento e alívio de estresse (Tabela 3).

Dentre todos os isolados purificados, 13 bactérias apresentaram o melhor desempenho na produção de compostos que contribuem para o alívio de estresses abióticos. Além dessas, 7 bactérias também foram consideradas por estarem relacionadas com produção de ácido indolacético (AIA) em conjunto com algum outro mecanismo de tolerância, seja produção de enzimas extracelulares (Catalase) ou halotolerância. Com isso, um total de 20 bactérias (1.4; 1.8; 1.10; 1.11; 2.1; 2.3; 2.4; 4.1; 4.2; 4.4; 4.6; 4.7; 6.1; 6.3; 7.2; 9.3; 10.8; 10.9; 12.2; 15.1) foram selecionadas para o experimento de inoculação nas plantas de Sorgo Forrageiro (IPA - SF 15) submetidas a estresse hídrico.

**Tabela 3.** Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento do isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga do Núcleo de desertificação de Cabrobó – PE

Bacteria	EPS	Biofilme	Solubilização		AIA	ACC	FBN	Halotolerância			CAT	NH <sub>3</sub>
			Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Al(PO <sub>4</sub> )				1M	2,5M	5M		
<b>1.1</b>	++ (+)	0.1538 (+)	*	*	-	+	+	+	+	-	++	+++
<b>1.2</b>	+(+)	0.1418 (+)	*	*	-	-	+	-	-	-	+	+++
<b>1.3</b>	+(+)	1.3612 (+++)	-	1.073 (BAIXA)	-	-	-	-	-	-	+	+++
<b>1.4</b>	++ (-)	0.1154 (+)	*	*	+	+	-	+	+	-	+	++
<b>1.5</b>	++(+)	0.5482 (++)	*	*	-	-	+++	-	-	-	+	+++
<b>1.6</b>	+++(+)	0.9399 (++)	1.113 (BAIXA)	*	-	-	+	+	+	-	+	+++
<b>1.7</b>	+++(+)	0.7329 (++)	1.256 (BAIXA)	*	-	+	+	-	-	-	-	+++
<b>1.8</b>	+++(+)	1.3065 (+++)	*	-	-	++	+	+	-	-	++	+++
<b>1.9</b>	++(+)	0.1779 (+)	*	*	-	+	+++	+	+	-	+	+++
<b>1.10</b>	++(+)	0.5514 (++)	*	*	+	-	+	+	+	-	+	++
<b>1.11</b>	++(+)	0.1554 (+)	*	*	+	++	+	+	-	-	-	++
<b>2.1</b>	++(+)	0.6135 (++)	*	*	+	-	+++	+	+	-	-	++
<b>2.2</b>	+++(+)	1.1930 (+++)	1.394 (BAIXA)	*	-	+	+	-	-	-	-	++
<b>2.3</b>	++(+)	0.1049 (+)	*	*	+	-	+	+	+	-	+	++
<b>2.4</b>	++(+)	0.3825 (++)	1.124 (BAIXA)	*	+	+	+	-	-	-	++	++
<b>4.1</b>	+++(+)	0.9719 (++)	-	-	-	+	+++	-	-	-	++	+++
<b>4.2</b>	+++(+)	0.7600 (++)	*	-	+	+	+	+	++	-	++	+++
<b>4.3</b>	+(+)	0.1103 (+)	0.718 (BAIXA)	*	-	+	-	-	-	-	-	+++
<b>4.4</b>	+++(+)	1.0801 (+++)	1.167 (BAIXA)	*	+	+	+	-	-	-	++	++
<b>4.6</b>	+++(+)	0.2370 (++)	1.369 (BAIXA)	*	-	+++	+	-	-	-	++	++
<b>4.7</b>	+++(+)	0.6941 (++)	1.412 (BAIXA)	*	-	+++	+	-	-	-	++	+
<b>5.1</b>	+++(-)	0.8114 (++)	1.359 (BAIXA)	*	-	-	+	+	-	-	+	++
<b>5.2</b>	+++(+)	0.4371 (++)	1.240 (BAIXA)	*	-	-	+	+	-	-	-	++
<b>5.6</b>	+++(+)	1.2056 (+++)	*	*	-	-	-	+	+	-	+	++
<b>6.1</b>	+++(+)	0.4572 (++)	1.036 (BAIXA)	*	-	++	+++	+	-	-	++	+++
<b>6.2</b>	+++(+)	1.1780 (+++)	1.164 (BAIXA)	*	-	+	+	-	-	-	-	++
<b>6.3</b>	+++(-)	0.1525 (+)	1.322 (BAIXA)	1.034 (BAIXA)	+	+++	+	-	-	-	++	+
<b>7.2</b>	++(+)	0.1658 (+)	-	*	+	+	-	+	+	-	++	+
<b>7.3</b>	+(+)	0.3263 (++)	-	*	-	-	+++	-	-	-	-	+

(Continua)

**Tabela 4.** Mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento do isolados bacterianos prospectados na rizosfera de espécies endêmicas da Caatinga do Núcleo de desertificação de Cabrobó – PE

												(Conclusão)	
<b>8.2</b>	+++(+)	0.5272 (++)	*	*	-	+	-	+	+	-	++	+	
<b>9.1</b>	+++(+)	0.6139 (++)	1.108 (BAIXA)	*	-	+	-	-	-	-	-	+	
<b>9.2</b>	+++(+)	0.6243 (++)	1.234 (BAIXA)	*	-	+	-	-	-	-	-	++	
<b>9.3</b>	+++(+)	0.5521 (++)	*	1.128 (BAIXA)	-	++	+++	+	-	-	-	++	
<b>10.1</b>	+++(-)	0.7052 (++)	*	*	-	-	-	+	+	-	-	++	
<b>10.3</b>	+++(+)	0.2013 (++)	1.237 (BAIXA)	*	-	+	-	+	-	-	-	+++	
<b>10.5</b>	+++(+)	0.6669 (++)	1.234 (BAIXA)	*	-	+	-	-	-	-	-	+++	
<b>10.6</b>	+++(+)	0.6601 (++)	1.146 (BAIXA)	*	-	+	-	-	-	-	-	++	
<b>10.7</b>	+++(+)	0.4891 (++)	*	*	-	-	-	+	+	-	-	+	
<b>10.8</b>	+++(+)	0.6242 (++)	*	*	-	+	+++	-	-	-	-	++	
<b>10.9</b>	+++(+)	0.3427 (++)	*	*	-	+	+++	+	+	-	-	++	
<b>10.10</b>	+(-)	0.2169 (++)	*	*	-	++	+	-	-	-	++	++	
<b>10.11</b>	++(-)	0.8478 (++)	*	*	-	++	+	+	+	-	+	++	
<b>11.1</b>	++(+)	0.5778 (++)	1.219 (BAIXA)	*	-	++	+	-	-	-	+	++	
<b>12.1</b>	++(-)	0.0561 (-)	-	*	-	-	-	-	-	-	++	++	
<b>12.2</b>	+++(+)	0.6770 (++)	*	*	+	+	+	-	-	-	+	++	
<b>13.1</b>	+++(+)	0.7143 (++)	1.215 (BAIXA)	*	-	-	-	+	+	-	-	+++	
<b>13.2</b>	++(+)	0.6590 (++)	*	*	-	+	+	+	-	-	+	++	
<b>13.3</b>	+++(+)	0.9407 (++)	1.231 (BAIXA)	*	-	-	-	-	-	-	++	+	
<b>15.1</b>	+++(-)	0.4647 (++)	1.084 (BAIXA)	*	+	+	+++	+	+	-	-	++	
<b>15.2</b>	++(+)	0.6602 (++)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
<b>15.3</b>	+++(+)	0.4795 (++)	1.151 (BAIXA)	*	-	+	-	+	-	-	+	+++	

EPS – Exopolissacarídeos; AIA – Ácido Indolacético; ACC – ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico; FBN – Fixação biológica de nitrogênio; CAT – produção da enzima Catalase; NH<sub>3</sub> – Produção de amônia; \* - Ausência de crescimento de colônia no mecanismo testado.

#### **4.2.3 Inoculação das BPCPs em *Sorghum bicolor* L. Moech. submetido à estresse hídrico**

As sementes de sorgo passaram por um processo de desinfestação, a partir da imersão em álcool 70% (3 min); posteriormente colocadas em hipoclorito de sódio 2,5% (v/v) (7 min); novamente suspendidas em álcool 70% (1 min); seguida de lavagem em água destilada estéril (ADE). Após a lavagem, a ADE foi plaqueada em meio Ágar-Água para verificação do crescimento de algum microrganismo contaminante.

As BPCP's foram crescidas em meio King B (King et al., 1954), sob agitação a 150 rpm por 48 horas. Após atingirem uma densidade ótica de  $10^8$  ( $DO_{550\text{ nm}} = 0,1$ ), as sementes desinfestadas foram imersas por duas horas (BISEN et al., 2015; KAVAMURA et al., 2013).

Após esse procedimento foi continuada com a semeadura em substrato inerte estéril (areia com vermiculita (2:1) autoclavadas). Aos 15 dias de aplicação do estresse hídrico, foi realizada a reinoculação das BPCPs (1 mL) na base da planta, o mais próximo ao sistema radicular.

#### **4.2.4 Condução do experimento e manejo de irrigação e nutricional das plantas de Sorgo (IPA SF 15)**

O experimento foi conduzido em ambiente protegido pertencente ao Programa de Pós-graduação em Ciência do solo na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), durante o período de 27 de outubro de 2020 à 15 de dezembro de 2020, perfazendo um total de 50 dias.

Os testes de capacidade de pote (CP) foram realizados em laboratório para estimar as umidades utilizadas durante o experimento. A partir dessa estimativa foram mantidos 3 níveis de estresse hídrico 80 % ( $0,202\text{ g g}^{-1}$ ), 50 % ( $0,126\text{ g g}^{-1}$ ) e 30 % ( $0,076\text{ g g}^{-1}$ ) da umidade correspondente a CP. A irrigação foi realizada diariamente por meio de proveta graduada em quantidade correspondente a água perdida por evapotranspiração estimada por meio de pesagens. Procedimento similar de manejo hídrico foi adotado por Araújo et al. (2020).

Além disso, semanalmente era aplicada solução nutritiva completa (HOAGLAND; ARNON, 1950) (ANEXO IX) como forma de suprir a demanda nutricional das plantas.

#### 4.2.4.1 Avaliação dos parâmetros fisiológicos

Os parâmetros da emissão da fluorescência da clorofila a (Fluorescência inicial [ $F_0$ ]; Fluorescência variável [ $F_v$ ]; Fluorescência máxima [ $F_m$ ]; Eficiência quântica do fotossistema II [ $F_v / F_m$ ]; Fluxo de elétrons por centro de reação [ $ET_0 / CR$ ]) foram estimados aos 30 dias após o estresse (DAE) com auxílio do aparelho fluorômetro FluorPen F100. As medições se deram na primeira folha totalmente expandida e saudável, após um período de aclimação no escuro (30 minutos) como forma de provocar a oxidação total do centro de reação do fotossistema II (PSII).

A extração química dos teores de pigmentos fotossintéticos (Clorofila a, b e Carotenoides) seguiu a metodologia proposta por Lichtenthaler e Buschmann (2001). Tal extração foi realizada nas mesmas folhas que foi realizada a medição da fluorescência da clorofila a como forma de haver uma melhor correlação com as medidas de cinética da fotossíntese das plantas inoculadas e submetidas a déficit hídrico.

#### 4.2.4.2 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi em arranjo fatorial 21 x 3, consistindo de 20 isolados com 1 controle sem inoculação e 3 níveis de umidade do solo (80%, 50% e 30% da umidade referente a Capacidade de pote) em blocos ao acaso com 3 repetições, formando um quantitativo de 189 unidades experimentais.

Foi realizada a análise de variância (ANOVA) no software ASSISTAT 7.7 e aplicado a comparação das médias pelo Teste de Scott-Knott ( $p < 0.05$ ). A raiz quadrada dos dados de pigmentos fotossintetizantes foi calculada, como forma de transformação direta visando atender todos os requisitos da estatística paramétrica.

A análise de componentes principais (ACP) foi realizada com auxílio do software PAST versão 4.02, para observar as características extraídas dos dados a partir de combinações lineares mais representativas.

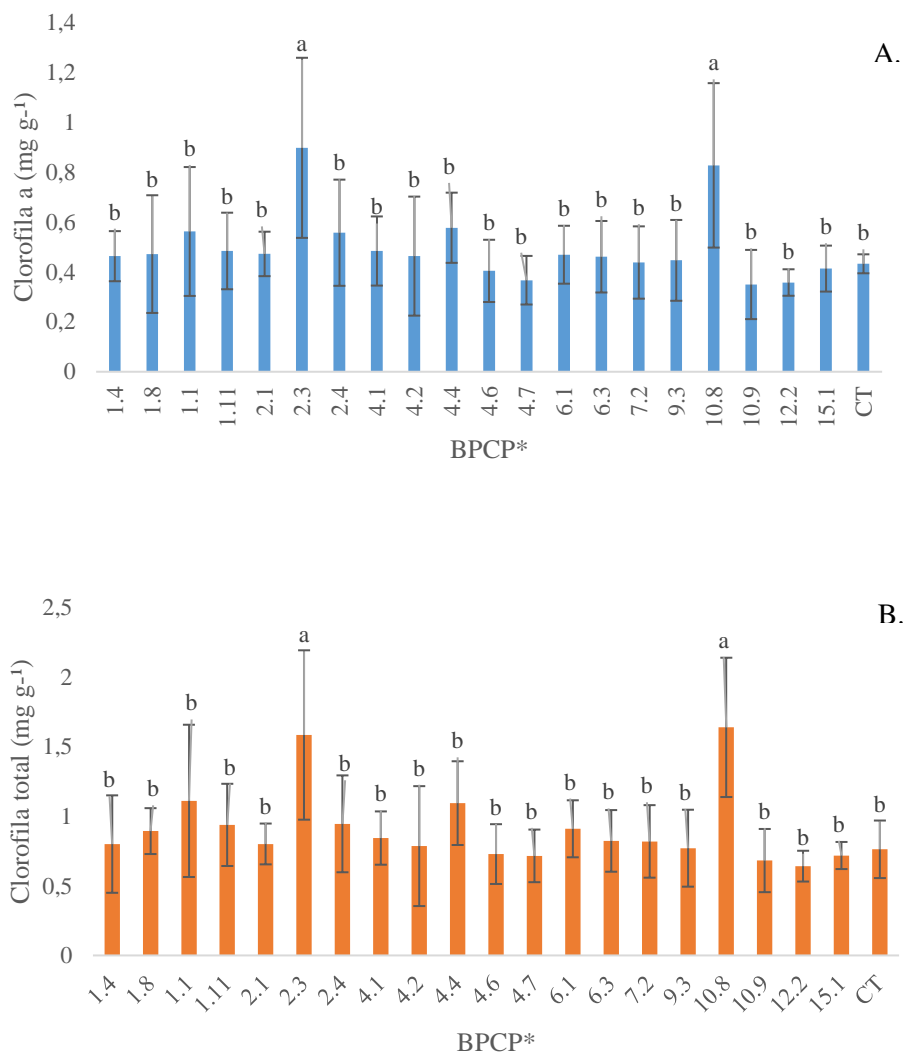
## 4.3 RESULTADOS

### 4.3.1 Pigmentos fotossintéticos em *Sorghum bicolor* [L.] Moench submetidos a estresse hídrico inoculados com BPCPs

A análise de variância mostrou que para a clorofila a e a clorofila total não houve interação entre os fatores (BPCPs x umidade). No entanto, os tratamentos de forma isolada apresentaram efeito significativo tanto para bactérias ( $p < 0,01$ ) como para a umidade ( $p < 0,05$ ). Na figura 1, observa-se que as plantas inoculadas com a bactéria 2.3 e 10.8, apresentaram maior teor de clorofila a ( $Chl_a$ ) e clorofila total ( $Chl_{total}$ ).

A inoculação com BPCPs influenciou positivamente a produção e acúmulo dos pigmentos fotossintetizantes, como é o caso da  $Chl_a$ . Ao comparar os tratamentos controle sem inoculação com as plantas inoculadas, observou-se diferença significativa entre as médias das plantas de sorgo inoculadas com o isolado 2.3, que apresentaram um acréscimo nos teores de  $Chl_a$  de 38,81 % (50 % da CP) e 44,87 % (30 % da CP). Na umidade de 80 % da CP houve decréscimo de 2,77 % da  $Chl_a$  (Figura 1A).

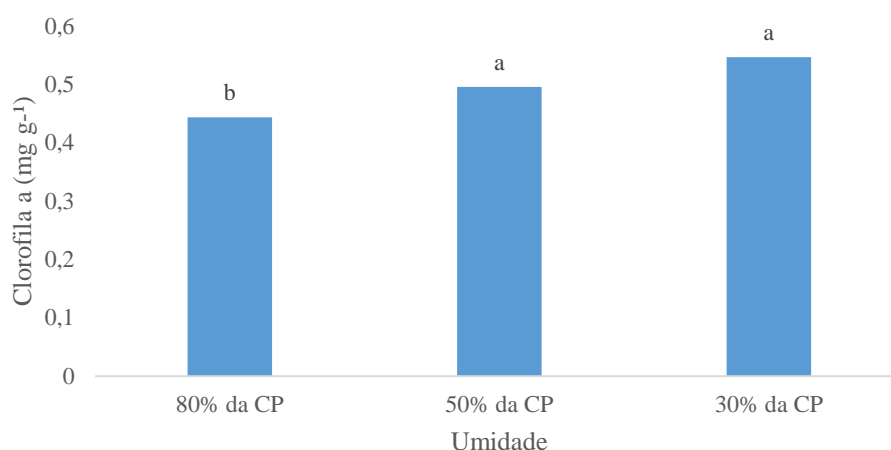
Da mesma forma, pode ser observado a diferença significativa entre as médias, correspondendo a um acréscimo de clorofila a nas plantas inoculadas com a bactéria 10.8, nos tratamentos de menor umidade (50 % e 30 % da CP) (Figura 1A). Ao comparar as plantas inoculadas com essa bactéria e o controle sem inoculação, pode ser observado que para a umidade de 50 % da CP houve acréscimo de 38,64 % para a  $Chl_a$  e 73,18 % para  $Chl_{total}$ ; e para a umidade de 30 % houve acréscimo de 72,72 % para a  $Chl_a$  e 71,16 % para  $Chl_{total}$  (Figura 1B).



**Figura 1.** A) Valores médios dos teores dos pigmentos fotossintéticos Clorofila a (*Chla*); B) Valores médios da Clorofila total (*Chltotal*) em plantas de sorgo forrageiro (IPA - SF - 15) submetidas a estresse hídrico e inoculadas com BPCPs. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. \*BPCP – *Bactérias Promotoras de Crescimento*

Para o parâmetro do teor foliar de *Chla*, as plantas de sorgo sofreram influência quanto a disponibilidade de água (Figura 2). Por mais severo que tenha sido o estresse, foi observado o aumento da *Chla* para o estresse de 30 % da CP, que foi na ordem de 36,12 % quando realizada a comparação com o controle sem inoculação mantido a essa mesma umidade.





**Figura 2.** Valores médios das umidades a que foram submetidas as plantas de sorgo forrageiro (IPA - SF - 15) inoculadas com BPCPs. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade

A clorofila b ( $Chl_b$ ), os carotenoides ( $Chl_{(x+b)}$ ) e o parâmetro de relação entre os pigmentos fotossintéticos (Relação  $Chl_a / Chl_b$ ), apresentaram interação significativa ( $p < 0,01$ ).

O comportamento do acúmulo nos teores de pigmentos fotossintéticos se repete para a  $Chl_b$  (Tabela 4), para os tratamentos com as bactérias 2.3, 2.4 e 10.8, evidenciando que quanto maior for o estresse hídrico aplicado na planta maior a quantidade de pigmento fotossintetizante será produzido.

A  $Chl_b$  no sorgo inoculado com a 2.4 apresentou diferença significativa entre as médias dos tratamentos, sendo observado acréscimos na ordem de 122 % (50 % da CP) e 79,92 % (30 % da CP), ao ser comparado com os tratamentos controles nas suas respectivas umidades do substrato. Partindo do mesmo pressuposto comparativo, a bactéria 10.8 houve incrementos de 65,04 % (50 % da CP) e 69,34 % (30 % da CP) em relação aos controles sem inoculação. Já a bactéria 2.3 contribuiu em 320 % (bactéria 2.3) com o aumento da  $Chl_b$  nas plantas de sorgo submetidas a umidade de 50% da CP, quando comparadas com o controle sem inoculação a 50% da CP.

As plantas inoculadas com a bactéria 6.1 apresentou diferença significativa entre as médias dos tratamentos, sendo observado o aumento mais expressivo de  $Chl_b$  dentre as plantas de sorgo submetidas a umidade de 50 % da CP. Quando comparadas com o controle sem

inoculação nessa mesma umidade (50 % da CP), a bactéria 6.1 aumentou em 183,66 % (bactéria 6.1) produção de clorofila b nas plantas de sorgo forrageiro.

**Tabela 5.** Média e desvio padrão da Clorofila b (Chlb) em plantas de sorgo forrageiro inoculadas com BPCP's e submetidos a estresse hídrico e que apresentaram interação significativa entre os fatores a 5% de probabilidade

Tratamentos	<i>Chl<sub>b</sub></i> (mg g <sup>-1</sup> )		
	80% da CP	50% da CP	30% da CP
<b>1.4</b>	0.3271 ± 0.0950 aA	0.3366 ± 0.0576 bA	0.3460 ± 0.1536 cA
<b>1.8</b>	0.5144 ± 0.3537 aA	0.4119 ± 0.1554 bA	0.3384 ± 0.0398 cA
<b>1.10</b>	0.5521 ± 0.3285 aA	0.4416 ± 0.1789 bA	0.6469 ± 0.05130 bA
<b>1.11</b>	0.4980 ± 0.2600 aA	0.4202 ± 0.0903bA	0.4425 ± 0.1514 cA
<b>2.1</b>	0.3948 ± 0.0967 aA	0.3028 ± 0.0713 bA	0.2873 ± 0.0497 cA
<b>2.3</b>	0.3908 ± 0.2189 aB	0.9846 ± 0.3131 aA	0.7055 ± 0.2163 bA
<b>2.4</b>	0.0392 ± 0.0372 bB	0.5204 ± 0.2426 aA	0.6119 ± 0.1821 bA
<b>4.1</b>	0.3453 ± 0.1097 aA	0.3795 ± 0.0333 bA	0.3557 ± 0.0587 cA
<b>4.2</b>	0.2458 ± 0.0496 aA	0.4114 ± 0.4269 bA	0.3756 ± 0.1540 cA
<b>4.4</b>	0.4042 ± 0.1727 aA	0.5621 ± 0.2658 aA	0.5842 ± 0.0682 bA
<b>4.6</b>	0.3135 ± 0.0980 aA	0.3890 ± 0.1724 bA	0.2688 ± 0.0158 cA
<b>4.7</b>	0.3626 ± 0.0707aA	0.2946 ± 0.0295 bA	0.3843 ± 0.2416 cA
<b>6.1</b>	0.3713 ± 0.0579 aB	0.6649 ± 0.2784 aA	0.2857 ± 0.0008 cB
<b>6.3</b>	0.3010 ± 0.0098 aA	0.3669 ± 0.0952 bA	0.4170 ± 0.1432 cA
<b>7.2</b>	0.3704 ± 0.1209 aA	0.2622 ± 0.0686 bA	0.5205 ± 0.2215 bA
<b>9.3</b>	0.2687 ± 0.1415 aA	0.3266 ± 0.1366 bA	0.3740 ± 0.1486 cA
<b>10.8</b>	0.6523 ± 0.0847 aB	0.6705 ± 0.0459 aB	1.1096 ± 0.3907 aA
<b>10.9</b>	0.2897 ± 0.1052 aA	0.3806 ± 0.0952 bA	0.3249 ± 0.0708 cA
<b>12.2</b>	0.3290 ± 0.1216 aA	0.1714 ± 0.0043 bA	0.3494 ± 0.0478 cA
<b>15.1</b>	0.3300 ± 0.0350 aA	0.2321 ± 0.0375 bA	0.3499 ± 0.0882 cA
<b>CT</b>	0.3357 ± 0.0785 aA	0.2344 ± 0.0186 bA	0.3401 ± 0.1150 cA
<b>CV(%)</b>	<b>19.11</b>		

Letras minúsculas comparação entre os tratamentos com a inoculação das bactérias; Letras maiúsculas comparação entre os tratamentos com os níveis de umidade. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os teores de carotenoides evidenciaram diferença significativa entre as médias dos tratamentos para as plantas inoculadas com as BPCPs 1.11, 2.1, 4.6, 12.2 e 15.1 (Tabela 5). Para esses isolados a plantas apresentaram um acréscimo de 200 %, 345,24 % e 213,41 %, respectivamente, ao se comparar o tratamento de menor umidade (30 % da CP) com o de maior água disponível (80 % da CP). As plantas inoculadas com a bactéria 10.8 apresentaram o maior acúmulo de carotenoides, aproximadamente 8 vezes maior que o teor de carotenoides do controle sem inoculação a 30 % da CP.

**Tabela 6.** Média e desvio padrão da Carotenoides ( $C_{(x+b)}$ ) em plantas de sorgo forrageiro inoculadas com BPCP's e submetidos a estresse hídrico e que apresentaram interação significativa entre os fatores a 5% de probabilidade

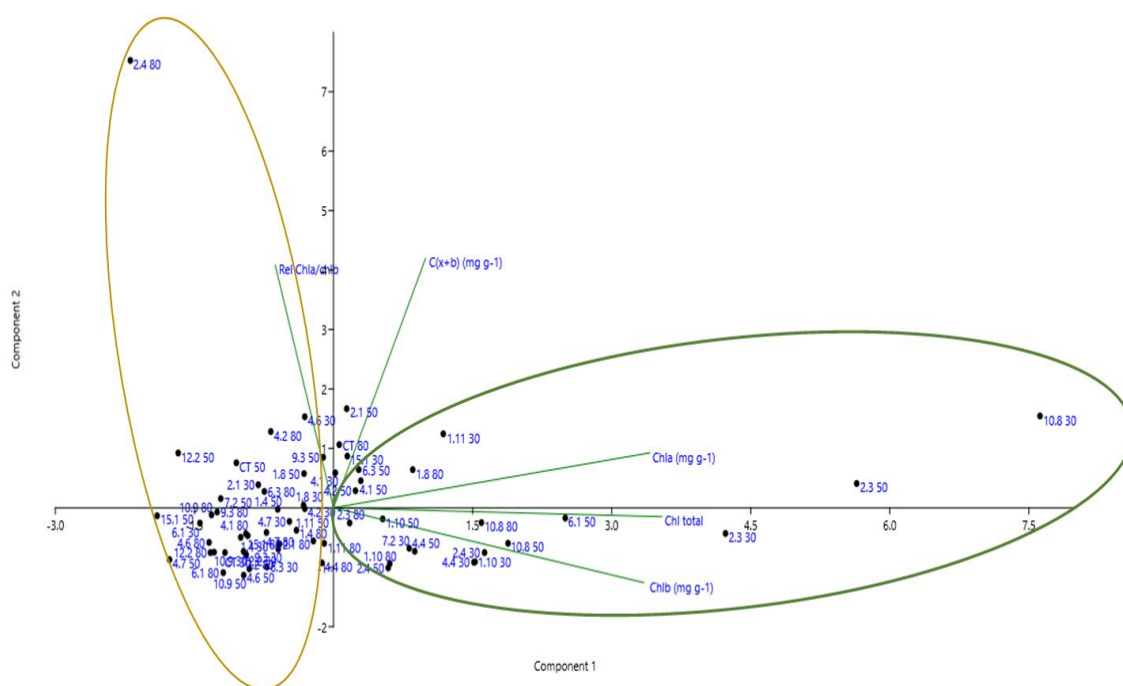
Tratamentos	$C_{(x+b)}$ (mg g <sup>-1</sup> )		
	80% da CP	50% da CP	30% da CP
1.4	0.0108 ± 0.0073 bA	0.0474 ± 0.0367 aA	0.0288 ± 0.0182 bA
1.8	0.0909 ± 0.0730 aA	0.0881 ± 0.0183 aA	0.0473 ± 0.0186 bA
1.10	0.0176 ± 0.0101 bA	0.0400 ± 0.0251 aA	0.0217 ± 0.00319 bA
1.11	0.0362 ± 0.0305 bB	0.0408 ± 0.0203 aB	0.1086 ± 0.0505 aA
2.1	0.0270 ± 0.0146 bB	0.1188 ± 0.0301 aA	0.0633 ± 0.0081 aB
2.3	0.0320 ± 0.0107 bA	0.0914 ± 0.0815 aA	0.0229 ± 0.0106 aA
2.4	0.1473 ± 0.0439 aA	0.0089 ± 0.0033 bB	0.0238 ± 0.0007 bB
4.1	0.0326 ± 0.0343 bA	0.0682 ± 0.0730 aA	0.0743 ± 0.0623 aA
4.2	0.0362 ± 0.0320 aA	0.0631 ± 0.0456 aA	0.0514 ± 0.0477 bA
4.4	0.0043 ± 0.0021 bA	0.0260 ± 0.0232 bA	0.0121 ± 0.0107 bA
4.6	0.0252 ± 0.0421 bB	0.0083 ± 0.0055 bB	0.1122 ± 0.0239 aA
4.7	0.0339 ± 0.0240 bA	0.0133 ± 0.0065 bA	0.0414 ± 0.0003 bA
6.1	0.0060 ± 0.0033 bA	0.0512 ± 0.0805 bA	0.0394 ± 0.0422 bA
6.3	0.0592 ± 0.0219 aA	0.0765 ± 0.0492 aA	0.0115 ± 0.0141 bB
7.2	0.0187 ± 0.0183 bA	0.0514 ± 0.0274 aA	0.0239 ± 0.0069 bA
9.3	0.0435 ± 0.0393 bA	0.0825 ± 0.0621 aA	0.0185 ± 0.0024 bA
10.8	0.0572 ± 0.0224 aA	0.0376 ± 0.0057 aA	0.1475 ± 0.0257 aA
10.9	0.0459 ± 0.0197aA	0.0021 ± 0.0008 bB	0.0181 ± 0.0021 bB
12.2	0.0189 ± 0.0021 bB	0.0786 ± 0.0074 aA	0.0179 ± 0.0104 bB
15.1	0.0276 ± 0.0269 bB	0.0418 ± 0.0057 bB	0.0865 ± 0.0092 aA
CT	0.0949 ± 0.0533 aA	0.0757 ± 0.0136 aA	0.0182 ± 0.0159 bB
<b>CV(%)</b>	<b>39.31</b>		

Letras minúsculas comparação entre os tratamentos com a inoculação das bactérias; Letras maiúsculas comparação entre os tratamentos com os níveis de umidade a que estava mantido o substrato das plantas. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Ao se observar a matriz composta pelos autovetores e autovalores dos teores de pigmentos fotossintéticos foliares em plantas de sorgo e os tratamentos experimentais, estima-se que os maiores autovalores associados apresentaram uma correspondência de  $\approx 88\%$ , demonstrando que o componente principal e secundário foram os mais significativos entre as dimensões dos dados (Figura 3).

Os teores de  $Chl_a$ ,  $Chl_b$  e  $Chl_{total}$  apresentaram maiores influências sobre as variáveis na análise para o componente principal (Figura 3 – Elipse verde). Já os teores foliares de Carotenoides ( $C_{x+b}$ ) e a razão entre as clorofilas ( $Chl_a/Chl_b$ ) apresentaram maior significância para a análise das variáveis no componente secundário.

As plantas inoculadas com o isolado 2.3 apresentaram o maior teor de pigmentos fotossintetizantes, independente da umidade do solo, como demonstrado no agrupamento com o eixo 1. Os teores de clorofila foliar dos tratamentos inoculados com as bactérias 4.6, 4.7, 10.9, 12.2, 15.1, e os controles sem inoculação 50 % e 30 % da CP apresentaram correlação negativa, apontando para uma possível redução no teor dos pigmentos fotossintéticos das plantas (Figura 3 – Elipse amarelo).



**Figura 3.** Gráfico da análise dos componentes principais (ACP) da análise de teores de pigmentos fotossintetizantes em plantas de sorgo forrageiro (IPA SF 15) inoculados com cepas bacterianas promotoras de crescimento. (*Chla a* – Clorofila a; *Chl b* – Clorofila b; *C(x+b)* – Carotenoides; *Rel Chla/Chlb* – razão entre os teores de clorofila).

#### 4.3.2. Emissão da fluorescência da *Chla* em sorgo forrageiro (IPA – SF 15) sob estresse hídrico e inoculado com bactérias promotoras de crescimento

Para os parâmetros de fluorescência da clorofila a tais como: a fluorescência inicial ( $F_0$ ) e a fluorescência máxima ( $F_m$ ) houve interação significativa ( $p < 0,05$ ). Já para os parâmetros da eficiência na absorção de fótons ( $F_v/F_m$ ) e fluxo de elétrons por centro de reação ( $ET_0/CR$ ) não houve interação significativa para nenhum dos tratamentos analisados.

Para a fluorescência inicial, as plantas inoculadas com as bactérias 1.10, 4.2, 6.3 e 7.2 apresentaram diferença significativa entre as médias dos tratamentos de umidade. Ao comparar os valores médios da umidade mais baixa (30 % da CP) com a umidade mais alta (80 % da CP) foi observado uma redução significativa da emissão da fluorescência inicial de 17,12 % (bactéria 1.10), 21,83 % (bactéria 4.2), 16,47 % (bactéria 6.3) e 39,97 % (bactéria 7.2).

**Tabela 7.** Médias e desvios padrão dos parâmetros da cinética da emissão da fluorescência inicial ( $F_0$ ) que apresentou interação entre as bactérias e o estresse hídrico induzido a que as plantas de sorgo foram submetidas

Tratamentos	$F_0$		
	80% da CP	50% da CP	30% da CP
<b>1.4</b>	6014 ± 65 Aa	6805.3 ± 845.8 aA	6588.6 ± 589.8 aA
<b>1.8</b>	6664.3 ± 56 aA	6356 ± 547.5 aA	5982 ± 562.9 aA
<b>1.10</b>	6859.3 ± 472.3 aA	6794 ± 195 aA	5685 ± 741 aB
<b>1.11</b>	6772.7 ± 276.2 aA	6458.7 ± 369.6 aA	6545.3 ± 187.6 aA
<b>2.1</b>	6418 ± 938.9 aA	7032.7 ± 514.5 aA	7303.7 ± 947.2 aA
<b>2.3</b>	6935 ± 341.6 aA	6500 ± 778.6 aA	5789.7 ± 562.1 aA
<b>2.4</b>	7065.3 ± 391.8 aA	6881 ± 541.6 aA	6713.5 ± 601.5 aA
<b>4.1</b>	5999 ± 878.1 aA	6500 ± 720.6 aA	5917.7 ± 1167.8 aA
<b>4.2</b>	6843 ± 244 aA	6778.5 ± 341.5 aA	5349 ± 344 aB
<b>4.4</b>	6396 ± 619.1 aA	6306.7 ± 485.4 aA	6458.7 ± 432.8 aA
<b>4.6</b>	6458.7 ± 262.7 aA	6077.5 ± 424.5 aA	6074.7 ± 484.7 aA
<b>4.7</b>	6989.7 ± 829.5 aA	6744.7 ± 1033.2 aA	6131.3 ± 665.7 aA
<b>6.1</b>	6291.3 ± 483.1 aA	6469 ± 490 aA	6276 ± 307 aA
<b>6.3</b>	6635.3 ± 984.1 aA	6881.3 ± 1164.1 aA	5542.7 ± 690.8 aB
<b>7.2</b>	6803.3 ± 1251.7 aA	5857.5 ± 254.5 aA	4083.5 ± 1800.5 bB
<b>9.3</b>	6696.7 ± 801 aA	6686 ± 650.3 aA	5982.7 ± 449.9 aA
<b>10.8</b>	6610.3 ± 701.1 aA	6588.3 ± 385.2 aA	6166 ± 390 aA
<b>10.9</b>	6154 ± 463.3 aA	6783.3 ± 952.4 aA	6011.7 ± 306.5 aA
<b>12.2</b>	6648.7 ± 531.1 aA	5830 ± 541.8 aA	6244.3 ± 651.4 aA
<b>15.1</b>	6355.5 ± 194.9 aA	6256 ± 782.4 aA	6379 ± 915 aA
<b>CT</b>	5748 ± 21.2 aA	6123.5 ± 580.5 aA	7637.5 ± 1697.8 aA
<b>CV (%)</b>	<b>10.13</b>		

Letras minúsculas comparação entre os tratamentos com a inoculação das bactérias; Letras maiúsculas comparação entre os tratamentos com os níveis de umidade a que estava mantido o substrato das plantas. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

As plantas inoculadas com as BPCP's 2.3, 4.2, 6.3 e 7.2 apresentaram diferença significativa entre as médias dos tratamentos de umidade, refletindo em um decréscimo de 22,41% [2.3]; 16,39% [4.2]; 17,48% [6.3] e 44,97% [7.2], na taxa da fluorescência máxima das

plantas submetidas a umidade de 30% da CP quando comparadas com as plantas a 80% da CP (Tabela 7).

**Tabela 8:** Médias e desvios padrão do parâmetro da fluorescência máxima (Fm), que apresentou interação entre as bactérias e o estresse hídrico induzido a que as plantas de sorgo foram submetidas

Tratamentos	Fm		
	80% da CP	50% da CP	30% da CP
<b>1.4</b>	24686 ± 2029.5 aA	23938.3 ± 1738 aA	23613.3 ± 3252.5 aA
<b>1.8</b>	23201.7 ± 835.8 aA	22475.7 ± 1535.3 aA	23753.6 ± 2218.6 aA
<b>1.10</b>	23548.3 ± 22723.1 aA	23261.5 ± 406.5 aA	21712 ± 3890.5 aA
<b>1.11</b>	23873.7 ± 3197 aA	22356 ± 639.1 aA	23526.7 ± 1168.7 aA
<b>2.1</b>	23363.3 ± 1593.7 aA	26019 ± 1144.9 aA	26106 ± 2429.2 aA
<b>2.3</b>	26669.3 ± 2935.4 Aa	22840.3 ± 3190.2 aB	20693.6 ± 946.4 bB
<b>2.4</b>	24437.3 ± 1957.3 aA	26853.7 ± 2828.5 aA	26804.5 ± 3397.5 aA
<b>4.1</b>	23185 ± 5231.8 aA	22746.7 ± 3743.7 aA	23887.3 ± 3137.5 aA
<b>4.2</b>	21857 ± 488 Aa	24480.5 ± 942.5 aA	18275 ± 2592 bB
<b>4.4</b>	23479.7 ± 5029.8 aA	24632 ± 2942.5 aA	23331.3 ± 3496 aA
<b>4.6</b>	24372 ± 2206.3 aA	22578 ± 503 aA	23683.6 ± 1774.2 aA
<b>4.7</b>	20579 ± 5083.4 aA	22543 ± 4320 aA	22145.6 ± 1394.6 aA
<b>6.1</b>	21574.7 ± 1592.9 aA	23537.3 ± 3469.8 aA	22726 ± 618.6 aA
<b>6.3</b>	23611.3 ± 1048.3 aA	23884.3 ± 1577.9 aA	19484.6 ± 2440.9 bB
<b>7.2</b>	24493.3 ± 3469.3 Aa	21955 ± 1257 aA	13479.5 ± 6839.5 cB
<b>9.3</b>	24112 ± 1962.1 aA	24512.7 ± 1447.3 aA	24899.6 ± 2516.4 aA
<b>10.8</b>	22692 ± 715 aA	22497.3 ± 1691.8 aA	23754.3 ± 3089.4 aA
<b>10.9</b>	20144.7 ± 3065.4 aA	23971 ± 633.9 aA	23020 ± 830.1 aA
<b>12.2</b>	25596.3 ± 2121.2 aA	21709.3 ± 2904.3 aA	23126.670 aA
<b>15.1</b>	22334.5 ± 1258.2 aA	22155 ± 2838.9 aA	20046.3 ± 3164.4 bA
<b>CT</b>	20977 ± 4017.8 aA	22039.5 ± 2532.1 Aa	16349.6 ± 7313.6 aA
<b>CV (%)</b>	<b>11.05</b>		

Letras minúsculas comparação entre os tratamentos com a inoculação das bactérias; Letras maiúsculas comparação entre os tratamentos com os níveis de umidade a que estava mantido o substrato das plantas. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott - Knott a 5% de probabilidade

Uma vez preservado os centros de reação do PSII, o fluxo de elétrons ( $ET_0/CR$ ) permanece contínuo que eleva a eficiência na absorção dos fótons de luz ( $F_v/F_m$ ), já que as membranas dos tilacoides não sofreram danos pelas espécies reativas de oxigênio (ERO's).

Para os tratamentos estudados não houve interação significativa entre os fatores a 5 % de probabilidade, tanto para  $F_v/F_m$  como para  $ET_0/CR$ .

Entretanto, é importante destacar o tratamento 9.3 30 % da CP que apresentou a maior eficiência na absorção de fótons ( $F_v/F_m = 0.7590$ ), evidenciando um acréscimo de 31,56% quando comparado com o controle sem inoculação na umidade de 30 % da CP.

Já o menor valor observado de  $F_v/F_m$  (0.6767) foi o do tratamento da bactéria 15.1 com 30 % da CP. No entanto, quando se compara esse tratamento (15.1 30 % da CP) com o controle sem inoculação de 30 %, é percebido um acréscimo de 18.07 %, ratificando assim a forte interação existente entre a inoculação de BPCP's com o alívio dos efeitos deletérios provocados pela restrição hídrica.

Como forma de estimar os danos no aparato fotossintético provocado pelo estresse abiótico aplicado nas plantas de sorgo foi realizado a ACP (Figura 4), onde a componente primária e secundária (PC1 e PC2) explicaram 89,98 % do efeitos provocados no fotossistema II (PSII) em folhas de sorgo. Observou-se que a Fluorescência máxima ( $F_m$ ), Fluorescência variável ( $F_v$ ), a eficiência quântica do PSII ( $F_v/F_m$ ) e o fluxo de elétrons por centro de reação ( $ET_0/CR$ ) apresentaram maior significância das variáveis no componente primário. A fluorescência inicial ( $F_0$ ) é representado pelos maiores valores das variáveis no componente secundário.

Para os tratamentos 7.2 à 30 % da CP, 4.2 à 30 % da CP, 6.3 à 30% da CP, 2.3 à 30 % da CP, 4.1 à 50 % da CP, 15.1 à 50 % da CP e 15.1 à 30 % da CP, além dos controles negativos com umidade 50 % e 80 % da CP (Figura 4 – elipse verde), houve uma correlação negativa com a emissão da  $F_0$ .





## 4.4 DISCUSSÃO

### 4.4.1 Pigmentos fotossintéticos em *Sorghum bicolor* L. Moench submetidos a estresse hídrico inoculados com BPCPs

As plantas com menor umidade (50% e 30% da CP) e que foram inoculadas com a maioria das BPCPs (15 bactérias) apresentaram uma melhor resposta, no que concerne a produção de pigmentos fotossintéticos, apontando para o fato de que os microrganismos são recrutados pela planta, formando uma zona limítrofe de alívio de estresse.

Zhang et al. (2019) ao estudarem a morfologia dos cloroplastos de plantas de Sorgo submetidos a inoculação com BPCPs, perceberam que as plantas inoculadas e sob estresse abiótico apresentaram a estrutura anatômica do cloroplasto preservada, com sua forma elipsoidal e a estrutura mitocondrial intacta, porém sem suas cristas. Fato que evidencia a contribuição de BPCPs para a preservação dos componentes do aparato fotossintético vegetal. Esse estudo ainda mostra que os teores de clorofila total e clorofila b aumentaram nos tratamentos com inoculação quando comparados com o tratamento controle sem bactéria, corroborando os resultados encontrados com o presente estudo.

Em variáveis de milho sensíveis ou resistentes à seca e submetidas a déficit hídrico e inoculadas com BPCPs apresentaram o aumento de 40% nos teores de clorofila foliar, para o genótipo sensível. Khan et al. (2020) ao estudarem o efeito da inoculação de BPCPs com e sem ácido salicílico em plantas de trigo submetidas a estresse hídrico observaram que os indivíduos vegetais apenas inoculados reduziram as perdas dos teores de pigmentos foliares em aproximadamente 9 %, já os que foram inoculados e aplicado o ácido salicílico aumentou os teores de pigmentos em 12 %.

Neste estudo foram encontrados aumentos de até 44,87 % (Bactéria 2.3) nos teores de clorofila a, apontando para o potencial das bactérias obtidas da rizosfera de plantas endêmicas da Caatinga utilizadas no experimento. Inclusive, ao se observar as 5 BPCPs (isolados 4.6; 4.7; 10.9; 12.2; 15.1) que apresentaram a maior redução nos teores de pigmentos neste estudo, pode-se inferir que o fenômeno esteja correlacionado com o fechamento estomático provocado pelo estresse hídrico mais severo e a menor eficiência dos microrganismos que foram testados.

Outra observação importante é que dentre as plantas inoculadas, o tratamento com maior umidade (80 % da CP) que recebeu o isolado 2.3 e apresentou redução na clorofila a e

carotenoides, pode ter correlação com a repressão de genes de proteção a seca por parte do vegetal, visto que se tratava das plantas que apresentavam mais água disponível em seu substrato. Isto é, devido ao substrato encontrar-se sempre com maior umidade, pode implicar na supressão do gene *SbDHN*, que é responsável pela codificação de proteínas hidrolíticas e preservação de membranas (FRACASSO et al., 2017), visto que outros mecanismos de alívio mais simples e com menor gasto energético podem ser utilizados para a proteção da planta contra o estresse ambiental a que ela esteja submetida.

No que tange a observação desses mecanismos a bactéria 2.3, que apresentou uma contribuição relevante no alívio do estresse das plantas de sorgo, devido a produção de exopolissacarídeos, de AIA (ácido indolacético) e da enzima Catalase (CAT). Ambos se correlacionam com a mudança da arquitetura do sistema radicular e diminuição dos efeitos deletérios das ERO's, devido a clivagem dessas espécies reativas gerando produtos menos danosos as membranas e proteínas da planta (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; CARLSON et al., 2020; GOWTHAM et al., 2020).

Mecanismos como a produção de EPS, em geral, pode ser atribuída a cepas do gênero *Bacillus*, que atuam no crescimento e desenvolvimento das plantas, além da hidratação dos tecidos (ALKAHTANI et al., 2020). Esta bactéria também possui correlação com a elevação da atividade de enzimas que sequestram o oxigênio reativo (GOVINDASAMY et al., 2017).

Outros exemplos, são a *Staphylococcus edaphicus* e *Streptomyces alboflavus*, que contribuem na produção de ACC deaminase, enzima que participa na clivagem da molécula de etileno em  $\alpha$  – cetobutirato e amônia, substâncias que contribuem principalmente para o desenvolvimento radicular (ARAÚJO et al., 2020).

A seca provoca um estresse secundário, denominado estresse oxidativo, que provoca a formação e liberação de espécies reativas de oxigênio (ERO's), que degradam as membranas celulares (BARREIROS et al., 2006). Além disso, a peroxidação lipídica e desnaturação de proteínas dos cloroplastos em conjunto com a redução nas concentrações dos teores de clorofila acentuam os efeitos do estresse sobre o vegetal (XU et al., 2018).

Com a intensidade do estresse, algumas BPCPs avaliadas contribuíram com o aumento expressivo do teores de carotenoides, que é um pigmento acessório para o suporte do aparato fotossintético aos danos agressivos dos estresses abióticos, que atuam dissipando ou absorvendo o excesso de energia na forma de calor (SHARMA et al., 2012).

Carlson et al. (2020) ao avaliarem a indução do sistema de defesa de plantas de sorgo inoculadas com 5 estirpes de rizobactérias promotoras de crescimento e submetidas a estresse hídrico, perceberam que os carotenoides provenientes da degradação do  $\beta$ - caroteno são positivamente regulados, fato provavelmente interligado ao potencial das RPCPs estudadas.

Plantas de sorgo submetidas a estresse hídrico e co inoculadas com Fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias (*Azospirillum* e *Azotobacter*), apresentaram um acréscimo máximo de carotenoides de aproximadamente 26 % (KAMALI; MEHABARAN, 2020), enquanto no nosso estudo a bactéria 10.8 em condições de estresse severo apresentou um acréscimo de 710 % em relação a planta controle sem inoculação com umidade fixada em 30 % da CP. Essa observação confirma a expressividade dessa bactéria na indução da resposta sistêmica das plantas de sorgo forrageiro (IPA SF-15) expostas à seca.

#### **4.4.2 Emissão da fluorescência da Chla em sorgo forrageiro (IPA – SF 15) sob estresse hídrico e inoculado com bacterias promotoras de crescimento.**

A emissão da fluorescência inicial denota quando o acceptor de elétron primário do PSII em total oxidação é exposto a luz, indicando a ativação das reações bioquímicas do centro de reação. Caso haja algum dano nesse aparato ocorre o aumento na fluorescência, implicando na degradação da membrana dos tilacóides devido a peróxidação lipídica e atuação da enzima clorofilase (NEVES; SPAT, 2013). Tal circunstância pode ser observada pelo agrupamento da maioria dos tratamentos acima do eixo do componente principal um (PC1) (Figura 6) principalmente para todos os tratamentos com as bacterias 2.1 e 2.3.

As bactérias que apresentaram maior proteção do aparato fotossintético, estão correlacionadas a mecanismos promotores de crescimento. Das 4 BPCP's, 3 inóculos (4.2, 6.3, 7.2) tem como mecanismo a produção de ACC deaminase, enzima que contribui para a proteção aos danos provocados pelo etileno formado durante o estresse oxidativo (GOWTHAN et al., 2020). Em nível do cloroplasto, as alterações induzidas por esse hormônio ocorrem principalmente nas membranas internas, além de provocar protuberâncias na parte periférica da organela (SHIMOKAWA; SAKANOSHITA; HORIBA, 1978). Com a deterioração das membranas do tilacóides as enzimas do ciclo ascorbato - glutaniona (AsA-GSH) que participam na desintoxicação celular das ERO's, acabam tendo sua atividade reduzida, pois encontram-se no estroma (IQBAL et al., 2017). Porém a ACC deaminase contribui para a diminuição dos

efeitos do etileno e aumenta os níveis de glutaniona (GSH) como forma de aliviar o estresse abiótico ao qual a planta esteja exposta (FATMA et al., 2021).

A bactéria 1.10, que não possui o mecanismo da ACC, possui outros mecanismos como a produção de AIA, que ativam as vias de defesa indólica a partir de aminoácidos, como o triptofano (DI et al., 2016). A produção de AIA por parte das rizobactérias, são responsáveis por modificar a arquitetura radicular das plantas de Sorgo, a partir da suprarregulação de fitohormônios (CARLSON et al., 2020). Outros mecanismos que estão presentes em todas essas bactérias é a produção de EPS e biofilme, que estão interligados com a sobrevivência, crescimento e desenvolvimento de plantas em ambientes extremos (ANSARI et al., 2017).

Além das mudanças a nível de membrana celular, é importante abordar as disfunções fisiológicas a nível de estruturas foliares, como é o caso dos estômatos, que por ação do agente estressor ambiental tem sua condutância reduzida provocando a diminuição na absorção de água e na difusão de CO<sub>2</sub> para os cloroplastos (MÜLLER et al., 2018). O resultado desses decréscimos ocasiona a supressão da taxa fotossintética, além de provocar a fotoinibição do PSII, que reflete diretamente no declínio no rendimento quântico ( $F_v/F_m$ ), elevando assim, a emissão da fluorescência inicial ( $F_0$ ).

Entretanto, observação divergente aconteceu em nosso trabalho. Embora a redução na emissão da fluorescência inicial da clorofila a, fato relacionado a preservação das membranas dos tilacóides, as bactérias 2.3, 4.2, 6.3 e 7.2 apresentaram redução na  $F_m$ , indicando que as plantas submetidas a estresse abiótico estavam fotoinibidas, pois provavelmente as quinonas (QA) dos centros de reação não encontravam-se reduzidas implicando na diminuição da intensidade das reações fotoquímicas (SILVA et al., 2015).

Segundo Tezara et al. (2005), em plantas sob condições estressantes o valor médio do rendimento quântico foi abaixo de 0,8 ( $F_v/F_m < 0,8$ ) o que significa dizer que há uma redução na eficiência quântica máxima, situação também observada nas plantas de sorgo forrageiro (IPA SF-15). No entanto, se comparadas com os tratamentos controle, as plantas inoculadas apresentaram aumento no rendimento quântico do PSII apontando para uma redução dos efeitos deletérios da seca no aparato fotossintético das plantas inoculadas.

Em nível molecular, é provável que as bactérias que não apresentam uma resposta significativa entre a inoculação e a mitigação do estresse estejam correlacionadas com a repressão da codificação de enzimas importantes para planta com ciclagem C4 submetidas a seca, como a SbnADP-ME e SbnCA, por falta de moléculas específicas que se ligam aos óperons

impedindo o avanço da RNA polimerase sobre o DNA. Essas enzimas são responsáveis pela prevenção à seca e conservação da água, além da regulação da condutância estomática (FRACASSO et al., 2017). Esses pesquisadores, ainda concluíram que para o sorgo a expressão do gene *SbDHN* codifica proteínas globulares hidrolíticas que se acumulam na célula protegendo a membrana celular e o equilíbrio iônico, fato observado por nosso estudo onde os valores de aumento nos teores de pigmentos fotossintéticos e do rendimento quântico evidenciaram a preservação das membranas dos tilacoides dos tratamentos inoculados com BPCPs submetidos a seca.

Segundo Müller et al (2018), durante a assimilação de C, as plantas tendem a armazenar fotoassimilados nas folhas, dentre eles o malato. Esse composto tem participação nos movimentos estomáticos da planta, pois o seu Carbono pode ser metabolizado pela planta durante a noite ou conforme a demanda energética aumente. Assim uma planta que não possua o malato prontamente disponível tende a fechar os seus estômatos e assim provocar os danos nas membranas, redução nos pigmentos fotossintéticos, aumento na emissão da fluorescência, tudo relacionado com o estresse oxidativo.

#### **4.5 CONCLUSÃO**

Com a utilização de variáveis que envolvem a performance do aparato fotossintético, como pigmentos fotossintetizantes e parâmetros da fluorescência da clorofila a foi possível identificar bactérias promotoras de crescimento de plantas com capacidade adaptativa para condições de estresse hídrico. Dentre as 20 bactérias avaliadas, destacaram-se as bactérias 1.10, 1.11, 2.3, 2.4, 4.2, 6.1, 6.3, 7.2, 10.8 e 15.1 que podem ser estudadas com possibilidade de utilização biotecnológica para inoculação em plantas submetidas a estresses abióticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKAHTANI, M. D., ATTIA, K. A., HAFEZ, Y. M., KHAN, N., EID, A. M., ALI, M. A., & ABDELAAL, K. A. Chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant defense system can display salt tolerance of salt acclimated sweet pepper plants treated with chitosan and plant growth promoting rhizobacteria. **Agronomy**, v. 10, n. 8, p. 1180, 2020. <doi.org/10.3390/agronomy10081180>

ANSARI, F. A., JAFRI, H., AHMAD, I., ABULREESH, H. H. Factors affecting biofilm formation in in vitro and in the rhizosphere. In: *Biofilms in plant and soil health*. Ahmad, I., & Husain, F. M. (Eds.). Wiley Blackwell, p. 275-290, 2017. <doi.org/10.1002/9781119246329>

APAC – AGÊNCIA PERNAMBUCANA DE ÁGUAS E CLIMA. Monitoramento pluviométrico. 2020. Disponível em <http://www.sirh.srh.pe.gov.br/apac/meteorologia/monitoramento-pluvio.php> Acesso em: 20 de dezembro de 2020.

ARAÚJO, V. L. V. P., JUNIOR, M. A. L., DE SOUZA JÚNIOR, V. S., DE ARAÚJO FILHO, J. C., FRACETTO, F. J. C., ANDREOTE, F. D., FRACETTO, G. G. M. Bacteria from tropical semiarid temporary ponds promote maize growth under hydric stress. **Microbiological Research**, v. 240, p. 126564, 2020. <doi.org/10.1016/j.micres.2020.126564>

BARREIROS, A. L., DAVID, J. M., DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química nova*, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006. <doi.org/10.1590/S0100-40422006000100021 >

BISEN, K., KESWANI, C., MISHRA, S., SAXENA, A., RAKSHIT, A., SINGH, H. B. Unrealized potential of seed biopriming for versatile agriculture. In: **Nutrient use efficiency: from basics to advances**. Rakshit, A., Singh, H. B., & Sen, A. (Eds.). New Delhi: Springer India. p. 193-206, 2015. <doi.org/10.1007/978-81-322-2169-2\_13>

CAMARA, E. R. G., SANTOS, J. C. B., ARAUJO FILHO, J. C., SCHULZE, S. M. B. B., CORREA, M. M., FERREIRA, T. O., SOUSA, J. E. S. de ; SOUZA JÚNIOR, V. S de . Parent rock–pedogenesis relationship: How the weathering of metamorphic rocks influences the genesis of Planosols and Luvisols under a semiarid climate in NE Brazil. **Geoderma**, v. 385, p. 114878, 2021. <doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114878>

CARLSON, R., TUGIZIMANA, F., STEENKAMP, P. A., DUBERY, I. A., HASSEN, A. I., LABUSCHAGNE, N. Rhizobacteria-induced systemic tolerance against drought stress in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Microbiological research**, v. 232, p. 126388, 2020. <doi.org/10.1016/j.micres.2019.126388>

CLOUTIER, M., CHATTERJEE, D., ELANGO, D., CUI, J., BRUNS, M. A., CHOPRA, S. Sorghum root flavonoid chemistry, cultivar, and frost stress effects on rhizosphere bacteria and fungi. **Phytobiomes Journal**, p. PBIOMES-01-20-0013-FI, 2020. <doi.org/10.1094/PBIOMES-01-20-0013-FI>

DI, D. W., ZHANG, C., LUO, P., AN, C. W., GUO, G. Q. The biosynthesis of auxin: how many paths truly lead to IAA? **Plant growth regulation**, v. 78, n. 3, p. 275-285, 2016. <doi.org/10.1007/s10725-015-0103-5>

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2018. 353p.

FAO. Crop Prospects and Food Situation - Quarterly Global Report No. 2, Rome, July 2020.

FATMA, M., IQBAL, N., GAUTAM, H., SEHAR, Z., SOFO, A., D'IPPOLITO, I., KHAN, N. A. Ethylene and Sulfur Coordinately Modulate the Antioxidant System and ABA Accumulation in Mustard Plants under Salt Stress. **Plants**, v. 10, n. 1, p. 180, 2021. <doi.org/10.3390/plants10010180>

FRACASSO, A., MAGNANINI, E., MAROCCO, A., AMADUCCI, S. Real-time determination of photosynthesis, transpiration, water-use efficiency and gene expression of two *Sorghum bicolor* (Moench) genotypes subjected to dry-down. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 932, 2017. <doi.org/10.3389/fpls.2017.00932>

GOVINDASAMY, V., RAINA, S. K., GEORGE, P., KUMAR, M., RANE, J., MINHAS, P. S., VITTAL, K. P. R. Functional and phylogenetic diversity of cultivable rhizobacterial endophytes of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 110, n. 7, p. 925-943, 2017. <doi.org/10.1007/s10482-017-0864-0>

GOWTHAM, H.G., SINGH, B., MURALI, M., SHILPA, N., PRASAD, M., AIYAZ, M., AMRUTHESH, K.N., NIRANJANA, S.R. Induction of drought tolerance in tomato upon the application of ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* Rhizo SF 48. **Microbiological Research**. 234, 126422, 2020. <doi.org/10.1016/j.micres.2020.126422>

GIULIETTI, A. M.; NETA, A. L. du B.; CASTRO, A. A. J. F.; GAMARA-ROJAS, C.F.L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; VIRGÍNIO, J.F.; QUEIROZ, L.P. de; FIGUEIREDO, M. A.; RODAL, M. de J. N.; BARBOSA, M. R. de V.; HARLEY, R. M. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. T.; LINS, L. V. (Org.). *Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, 2003. 382 p.

HAMMER, D. A.T., HARPER, D. A., RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. . *Palaeontologia Electronica*, v. 4, n. 1, 9p. 2001.

HILTNER, L. Ueber neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundungung und Brache. *Arb. Deut. Landw. Gesell*, v. 98, p. 59-78, 1904.

HOAGLAND, D.R., ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. **California agricultural experiment station**, California, v. 347, 2 ed. 1950. 32 p.

IQBAL, N.; KHAN, N.A.; FERRANTE, A.; TRIVELLINI, A.; FRANCINI, A.; KHAN, M.I.R. Ethylene role in plant growth, development and senescence: Interaction with other phytohormones. **Frontiers in plant science**, v.8, p.475, 2017. <doi.org/10.3389/fpls.2017.00475>

JACOMINE, P. K. T.; CAVALCANTI, A. C.; BURGOS, N.; PESSOA, S. C. P.; SILVEIRA, C. O. da. Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do estado de Pernambuco. SUDENE-DRN; Brasília, DF: Divisão de Pesquisa Pedológica, 1973. 359p.

JOCHUM, M.D., MCWILLIAMS, K.L., BORREGO, E.J., KOLOMIETS, M.V., NIU, G., PIERSON, E.A., JO, Y.K. Bioprospecting plant growth-promoting rhizobacteria that mitigate drought stress in grasses. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2106, 2019. <doi.org/10.3389/fmicb.2019.02106>

KAMALI, S., MEHRABAN, A. Nitroxin and arbuscular mycorrhizal fungi alleviate negative effects of drought stress on Sorghum bicolor yield through improving physiological and biochemical characteristics. **Plant Signaling & Behavior**, v. 15, n. 11, p. 1813998, 2020. <doi.org/10.1080/15592324.2020.1813998>

KAUSHAL, M., WANI, S. P. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. **Annals of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 35-42, 2016. <doi.org/10.1007/s13213-015-1112-3>

KAVADIA, A., OMIROU, M., FASOULA, D., IOANNIDES, I. M. The importance of microbial inoculants in a climate-changing agriculture in eastern Mediterranean region. **Atmosphere**, v. 11, n. 10, p. 1136, 2020. <doi.org/10.3390/atmos11101136>

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. S. da; PARMA, M. M.; ÁVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, T.D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. de. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, Jena, v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013. <doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002>

KHAN, N., BANO, A. M., BABAR, A. Impacts of plant growth promoters and plant growth regulators on rainfed agriculture. **PloS one**, v. 15, n. 4, p. e0231426, 2020. <doi.org/10.1371/journal.pone.0231426>

KING, E.O., WARD, M.K., RANEY, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 44, n. 2, p. 301-307, 1954 <doi.org/10.5555/urj:pii:0-2221435490222X>

KUMAR, G. P., KISHORE, N., AMALRAJ, E. L. D., AHMED, S. M. H., RASUL, A., DESAI, S. Evaluation of fluorescent Pseudomonas spp. with single and multiple PGPR traits for plant growth promotion of sorghum in combination with AM fungi. **Plant growth regulation**, v. 67, n. 2, p. 133-140, 2012. <doi.org/10.1007/s10725-012-9670-x>

LICHTENTHALER, H. K., BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v.1, p.1-8, 2001. <doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>



MCNEAR JR, D. H. The rhizosphere-roots, soil and everything in between. **Nature Education Knowledge**, v. 4, n. 3, p. 1, 2013.

MUKHTAR, T., SMITH, D., SULTAN, T., SELEIMAN, M. F., ALSADON, A. A., ALI, S., SAAD, M. A. Mitigation of heat stress in *Solanum lycopersicum* L. by ACC-deaminase and exopolysaccharide producing *Bacillus cereus*: effects on biochemical profiling. **Sustainability**, v. 12, n. 6, p. 2159, 2020. <doi.org/10.3390/su12062159>

MÜLLER, G. L., LARA, M. V., OITAVEN, P., ANDREO, C. S., MAURINO, V. G., DRINCOVICH, M. F. Improved water use efficiency and shorter life cycle of *Nicotiana tabacum* due to modification of guard and vascular companion cells. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2018. <doi.org/10.1038/s41598-018-22431-5>

NEVES, L. A. S. das; SPAT, C. Concentração de clorofila e de prolina em genótipos de arroz submetidos à salinidade. **Unimontes Científica**, Montes Claros, v.15, p.1-10, 2013.

OMOTAYO, O. P., BABALOLA, O. O. Resident rhizosphere microbiome's ecological dynamics and conservation: Towards achieving the envisioned Sustainable Development Goals, a review. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 9, p. 127-142, 2021. <doi.org/10.1038/s41598-018-22431-5>

PAGE, M. G. Siderophore conjugates. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1277, n. 1, p. 115-126, 2013. <doi.org/10.1111/nyas.12024>

PRIYA, P., PATIL, V. C., KUMAR, B. N. A. Characterization of grain sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] for root traits associated with drought tolerance. **Research in Environment and Life Sciences**, v. 9, n. 2, p. 163-165, 2016.

SHARMA, P., JHA, A. B., DUBEY, R. S., PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, 2012. <doi.org/10.1155/2012/217037>

SHARMA, I. P., SHARMA, A. K. Physiological and biochemical changes in tomato cultivar PT-3 with dual inoculation of mycorrhiza and PGPR against root-knot nematode. **Symbiosis**, v. 71, n. 3, p. 175-183, 2017. <doi.org/10.1007/s13199-016-0423-x>

SHIMOKAWA, K., SAKANOSHITA, A., HORIBA, K. Ethylene-induced changes of chloroplast structure in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). **Plant and Cell Physiology**, v. 19, n. 2, p. 229-236, 1978. <doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a075589>

SCHITTENHELM, S., SCHROETTER, S. Comparison of drought tolerance of maize, sweet sorghum and sorghum-sudangrass hybrids. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 200, n. 1, p. 46-53, 2014. <doi.org/10.1111/jac.12039>

SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African. Journal Agricultural Research**, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016. <doi.org/10.5897/AJAR2016.11522>

TEZARA, W., MARÍN, O., RENGIFO, E., MARTÍNEZ, D., HERRERA, A. Photosynthesis and photoinhibition in two xerophytic shrubs during drought. **Photosynthetica**, v. 43, n. 1, p. 37-45, 2005. <doi.org/10.1007/s11099-005-7045-5>

TIRADO, R., COTTER, J. Ecological farming: Drought-resistant agriculture. **Greenpeace Research Laboratories**, Exeter, 2010, 16p.

TULU, U. T. Screening and Identification of Potential Striga [*Striga hermonthica* (Del.)] Suppressing Rhizobacteria Associated with Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] in Northern Ethiopia. 2020. Addis Ababa University. Tese de Doutorado.

WANG, Y.; NII, N. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 75, n. 6, p. 623-627, 2000. <doi.org/10.1080/14620316.2000.11511297>

XU, L., NAYLOR, D., DONG, Z., SIMMONS, T., PIERROZ, G., HIXSON, K. K., KIM, Y., ZINK, E. M., ENGBRECHT, K. M., WANG, Y., GAO, C., DEGRAAF, S., MADERA, M. A., SIEVERT, J. A., HOLLINGSWORTH, J., BIRDSEYE, D., SCHELLER, H. V., HUTMACHER, R., DAHLBERG, J., JANSSON, C., TAYLOR, J. W., LEMAUX, P. G., COLEMAN-DERR, D. Drought delays development of the sorghum root microbiome and enriches for monoderm bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 18, p. E4284-E4293, 2018. <doi.org/10.1073/pnas.1717308115>

ZHANG, W., XIE, Z., ZHANG, X., LANG, D., ZHANG, X. Growth-promoting bacteria alleviates drought stress of *G. uralensis* through improving photosynthesis characteristics and water status. **Journal of Plant Interactions**, v. 14, n. 1, p. 580-589, 2019. <doi.org/10.1080/17429145.2019.1680752>

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante das necessidades de uma produção agrícola sustentável, a biotecnologia surge como uma fonte promissora de preservação do ecossistema terrestre. O avanço de estudos científicos e a observação da interação simbiótica entre plantas e microrganismos eleva o patamar de equilíbrio entre esses reinos.

No bioma Caatinga, caracterizado por sua peculiaridade na resistência e resiliência a longos períodos de estiagem. Podem ser encontrados diversos mecanismos de tolerância, principalmente os relacionados com a promoção de crescimento de plantas e alívio de estresse vegetal. Ao serem avaliadas algumas espécies desse bioma, no âmbito da mitigação de estresse abiótico, é possível supor que provavelmente haja a existência de um genoma secundário na rizosfera das plantas que conferem uma adaptabilidade ecofisiológica dos vegetais nessas áreas com restrição na disponibilidade hídrica. Além disso, as bactérias prospectadas apresentam bom desempenho na associação com plantas de sorgo forrageiro, pois contribuem com o crescimento, desenvolvimento e proteção das funções fisiológicas dessas plantas.

Contudo, além do que foi observado, sugere-se que a avaliação metagenômica do solo rizosférico de espécies, como a Faveleira, a partir da identificação de cada espécie de microrganismo rizosférico e seus genes funcionais, seja realizada pois é de suma importância para que se possa atribuir e correlacionar os fenômenos desencadeados nas plantas e na comunidade microbiana quando estas forem expostas a estresses ambientais, como é o caso do estresse hídrico.

**ANEXO I****Meio King B (KING et al., 1954)**

Para confecção de 1 Litro de meio de cultura:

<b>REAGENTES</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Peptona bacteriológica	20 g
Sulfato de Magnésio (MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O)	1,5 g
Fosfato de potássio monobásico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	1,5 g
Ágar bacteriológico	15 g
Glicerina	10 ml

\*O meio foi preparado com a adição de sorbitol devido a necessidade de restringir a atividade de água ( $A_w = 0,957$ ), assim foi adicionado 285 g de Sorbitol.

**ANEXO II****Meio Modificado (GUIMARÃES et al., 1999)**

Para confecção de 1 Litro de meio de cultura:

<b>REAGENTES</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Extrato de levedura	20 g
Sulfato de Magnésio (MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O)	0,2 g
Fosfato de potássio monobásico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	15 g
Sulfato de Manganês (MnSO <sub>4</sub> )	0,015 g
Sulfato Ferroso (FeSO <sub>4</sub> )	0,015 g
Cloreto de Cálcio (CaCl <sub>2</sub> )	0,03 g
Cloreto de Sódio (NaCl)	0,015 g
Ágar bacteriológico	15 g

\*O meio foi preparado com a adição de Sacarose a 10%

**ANEXO III****Meio TSB (Tryptic Soy Broth)**

Para confecção de 1 Litro de meio de cultura:

<b>REAGENTES</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Peptona de soja	17 g
Peptona de casaína	3 g
Fosfato de potássio monobásico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2,5 g
NaCl	5 g
Glicose	2,5 g

\*Para a análise de AIA o meio é enriquecido com L-Triptofano 5 mM.; \*\*pH 7.3

**ANEXO IV****Meio Solubilização de Cálcio**

Para confecção de 1 Litro de meio de cultura:

<b>REAGENTES</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Glucose (Dextrose)	10 g
Sulfato de Magnésio (MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O)	1 g
Fosfato de cálcio monobásico (CaHPO <sub>4</sub> )	4 g
Cloreto de Amônio (NH <sub>4</sub> Cl)	5 g
Cloreto de Sódio (NaCl)	1 g
Ágar bacteriológico	15 g

\*pH 7.2

**ANEXO V****Meio Solubilizadora de Alumínio**

Para confecção de 1 Litro de meio de cultura:

<b>REAGENTES</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Manitol	10 g
Extrato de levedura	1 g
Cloreto de Alumínio ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	4 g
Fosfato de potássio monobásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	5 g
Ágar bacteriológico	15 g

\*pH 4,5

**ANEXO VI****Meio M9**

Para confecção de 1 Litro de meio de cultura:

<b>REAGENTES</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Fosfato de sódio monobásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	6 g
Sulfato de Magnésio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0,1M	1mL
Fosfato de potássio monobásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	3 g
Ágar bacteriológico	15 g
Cloreto de sódio (NaCl)	0,5 g
Cloreto de Cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) 1M	10mL
Glicose	2 g

\*O meio foi preparado com a adição de ACC 3 mM devido a necessidade de observar o crescimento de colônia em meio onde o ACC fosse a única fonte de nitrogênio.

**ANEXO VII****Meio NFb**

Para confecção de 1 Litro de meio de cultura:

<b>REAGENTES</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (%)</b>	<b>PIPETAR (mL L<sup>-1</sup>)</b>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10	1
NaCl	10	5
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	1	5
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	10	2
Azul de Bromotimol*	0,5	2

\*Azul de Bromotimol em KOH 2N; \*\* Inserir Ácido Málico 5 g L<sup>-1</sup>

**Preparação da solução estoque de micronutrientes e FeEDTA – Solução estoque 1000 mL**

<b>SOLUÇÃO ESTOQUE</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (%)</b>	<b>PIPETAR (mL L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Micronutrientes</b>		
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,14	
MnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0,1175	
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,12	2
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,04	
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,1	
Fe – EDTA	1,64	4

<b>SOLUÇÃO ESTOQUE</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (%)</b>	<b>PIPETAR (mL L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Vitaminas</b>		
Biotina	0,01	
Piridoxol – HCl	0,02	1

**ANEXO VIII****Meio Ágar - Halofílico (VINOTHINI et al., 2014)**

Para confecção de 1 Litro de meio de cultura:

<b>REAGENTES</b>	<b>QUANTIDADE</b>
Peptona bacteriológica	20 g
Sulfato de Magnésio (MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O)	6 g
Extrato de levedura	3 g
Cloreto de Cálcio (CaCl <sub>2</sub> )	0,1 g
Cloreto de Sódio (NaCl)	30 g
Cloreto de Potássio (KCl)	5 g
Ágar	20 g

**ANEXO IX****Solução Nutritiva (Hoagland e Arnon, 1951) – Solução estoque 1000 mL**

<b>SOLUÇÃO ESTOQUE</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>PIPETAR (mL L<sup>-1</sup>)</b>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,09	1
KCl	74,56	5
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	147,02	5
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	247,47	2
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	132,14	2
Micronutrientes		1
FeEDTA		1



**Preparação da solução estoque de micronutrientes e FeEDTA – Solução estoque 1000 mL**

<b>SOLUÇÃO ESTOQUE</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>PIPETAR (mL L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Micronutrientes</b>		
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86	
MnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	1,55	
ZnCl <sub>2</sub>	0,1	1
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,08	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub>	0,02	
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	24,9	
EDTA	33,2	1
NaOH [1 mol L <sup>-1</sup> ]	89	

## APÊNDICE I

**Quadro de análise de variância para os parâmetros de biometria de plantas de sorgo forrageiro (IPA – SF 15) inoculadas com bactérias promotoras de crescimento (BPCPs) e submetidas a estresse hídrico**

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		<i>Altura de planta</i>	<i>Diâmetro de caule</i>	<i>MFPA</i>	<i>MSPA</i>
<b>Bactéria (B)</b>	20	75.21823 <sup>ns</sup>	0.53891**	1.13807 <sup>ns</sup>	0.04157 <sup>ns</sup>
<b>Umidade (U)</b>	2	178.68824*	2.77346**	21.08887**	0.22752**
<b>B x U</b>	40	59.24319 <sup>ns</sup>	0.38034**	0.90152 <sup>ns</sup>	0.04324 <sup>ns</sup>
<b>Resíduo</b>		53.79449	0.19348	0.72492	0.02981
<b>Total</b>	251				
<b>CV (%)</b>		26.27	16.31	36.69	34.90

MFPA – Massa Fresca da Parte Aérea; MSPA – Massa Seca da Parte Aérea

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ); ns não significativo ( $p \geq 0,05$ )

## APÊNDICE II

**Quadro de análise de variância para os teores de pigmentos fotossintéticos em plantas de sorgo forrageiro (IPA – SF 15) inoculadas com bactérias promotoras de crescimento e submetidas a estresse hídrico**

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio				
		<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Chl total</i>	<i>C<sub>x+b</sub></i>	Rel <i>Chl a/ Chl b</i>
<b>Bactéria (B)</b>	20	0,06491**	0,07647**	0,12973**	0,01777**	0,47095**
<b>Umidade (U)</b>	2	0,07096*	0,06938**	0,13039*	0,00682 <sup>ns</sup>	0,25719*
<b>B x U</b>	40	0,02273 <sup>ns</sup>	0,03011**	0,03414 <sup>ns</sup>	0,01872**	0,56377**
<b>Resíduo</b>		0,01950	0,01403	0,02945	0,00580	0,07532
<b>Total</b>	188					
<b>CV (%)</b>		20,36	19,11	18,47	39,31	23,64

*Chl a* – Clorofila a; *Chl b* – Clorofila b; *Chl total* – somatório entre as clorofilas a e b; *C<sub>x+b</sub>* – Carotenóides; Rel *Chl a/Chl b* – Razão entre os teores de clorofila foliar.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ); ns não significativo ( $p \geq 0,05$ )

**Quadro de análise de variância para os parâmetros de emissão da fluorescência da clorofila a em plantas de sorgo forrageiro (IPA – SF 15) inoculadas com bactérias promotoras de crescimento e submetidas a estresse hídrico**

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio				
		<i>F<sub>0</sub></i>	<i>F<sub>v</sub></i>	<i>F<sub>m</sub></i>	<i>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub></i>	<i>ET<sub>0</sub>/CR</i>
<b>Bactéria (B)</b>	20	665378.4 <sup>ns</sup>	12426234.3**	16233632.7**	0.00132 <sup>ns</sup>	0.01057 <sup>ns</sup>
<b>Umidade (U)</b>	2	4020558.8**	5533870.0 <sup>ns</sup>	16707414.8 <sup>ns</sup>	0.00168 <sup>ns</sup>	0.042270*
<b>B x U</b>	40	635161.4*	7781579.5*	116830.7*	0.00101 <sup>ns</sup>	0.01127 <sup>ns</sup>
<b>Resíduo</b>		417387.7	5014226.1	6474036.7	0.00084	0.01024
<b>Total</b>	188					
<b>CV (%)</b>		10.13	13.46	11.04	4.02	9.42

*F<sub>0</sub>* – Fluorescência inicial; *F<sub>v</sub>* – Fluorescência variável; *F<sub>m</sub>* – Fluorescência máxima; *F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>* – Eficiência na absorção de fótons; *ET<sub>0</sub>/CR* – Fluxo de elétrons por centro de reação.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ); ns não significativo ( $p \geq 0,05$ )