

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**VICTOR LUCAS VIEIRA PRUDÊNCIO DE ARAÚJO**

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO  
DE PLANTAS DE UMA LAGOA TEMPORÁRIA DO SEMIÁRIDO  
TROPICAL**

**Recife**

**2019**



Victor Lucas Vieira Prudêncio de Araújo  
Engenheiro Agrônomo

**Prospecção de bactérias promotoras de crescimento de plantas de uma lagoa temporária  
do semiárido tropical**

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

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto

Coorientador: Prof. Dr. Mario de Andrade Lira Junior

Coorientador: Dr. Felipe José Cury Fracetto

**Recife  
2019**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

A663p Araújo, Victor Lucas Vieira Prudêncio de.  
Prospecção de bactérias promotoras de crescimento de plantas de uma lagoa temporária do semiárido tropical / Victor Lucas Vieira Prudêncio de Araújo. – Recife, 2019.  
93 f.: il.

Orientador(a): Giselle Gomes Monteiro Fracetto.  
Coorientador(a): Mario de Andrade Lira Junior.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Recife, BR-PE, 2019.  
Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

1. Micro-organismos 2. Inoculantes 3. Biotecnologia 4. Caatinga I. Fracetto, Giselle Gomes Monteiro, orient. II. Lira Junior, Mario de Andrade, coorient. III. Título

CDD 631.4

VICTOR LUCAS VIEIRA PRUDÊNCIO DE ARAÚJO

**Prospecção de bactérias promotoras de crescimento de plantas de uma lagoa temporária  
do semiárido tropical**

Dissertação 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 Mestre em Ciência do Solo.

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto  
Orientadora  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Mario de Andrade Lira Junior  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Dr. Vinicius Santos Gomes da Silva  
Instituto Federal de Pernambuco



## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e ter me guiado durante toda minha vida, me fortalecendo e garantindo a sabedoria para saber lidar com os momentos de dificuldades.

*“Tudo posso, naquele que me fortalece” (FP 4.13).*

A minha família, em especial meus pais Leticia Vieira da Silva e Orlando Prudêncio de Araújo, que me incentivaram, me deram conselhos fundamentais e me apoiaram de todas as maneiras mesmo nas dificuldades, contribuindo para o meu crescimento profissional e pessoal. Ao meu irmão, Bruno Cesar Vieira Prudêncio de Araújo, sempre me apoiando e incentivando. Meu Primo Arthur Prudêncio, o qual pedi incontáveis conselhos, meu muito obrigado você foi peça chave para eu conseguir alcançar meu objetivo.

A minha Noiva, Allanna Karla Jerônimo Barbosa, que sempre esteve ao meu lado cuidando de mim me dando forças para que este sonho torna-se realidade.

À minha orientadora, Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto, a qual considero mais que orientadora, considero-a como uma mãe, foram vários conselhos, puxões de orelha, sorrisos e o mais importante muito conhecimento adquirido. Ao Felipe José Cury Fracetto, o qual considero como um irmão, sempre me incentivando, me dando conselhos contribuindo com o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao prof. Dr. Mario Lira Júnior, por ter me dado a oportunidade de ingressar no Projeto de Iniciação Científica (PIC) em 2015, posso dizer que foi fundamental para escolher qual caminho profissional seguir. Também agradeço pela orientação e importantes conselhos que contribuíram com este trabalho.

Aos amigos e irmãos de orientação, Felipe Martins, Iure, Petrônio, Eliabe Freitas, Lucía Nuñez, Tiago Santos e, especialmente, a Debora Sales e Andreza Carla, que foram peça fundamental no desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus colegas de laboratório e aos professores/supervisores que me acompanharam nesta jornada de aprendizado.

Ao laboratório de microbiologia do solo - UFRPE, IPA-PE e a ESALq-USP por me conceder o espaço para realização todas as minhas atividades e assim adquirir conhecimentos na área de ciência do solo. Agradecer também aos técnicos, Sônia, Denise, Fernandinho, Elisa, Nivanda, Júnior, Marilene.

Aos meus amigos, Aleksandro Ferreira, Adaías Jéfter, Elvis Prudêncio, Guilherme Andrade, Luciana Tajany, Sidynei Morandi, Amanda Michele, Adriana, Marcelo Mendonça, Eduardo, Léo, Adjailton, Pedro, Timóteo, Andressa, Pablo, Lion, Marcos Jhon, Jhony Mendonça, Caio Cesar os quais pude contar em todos os momentos.

Agradecer ao PET-Agronomia UFRPE, foram 4 anos de muito trabalho, que contribuíram muito na minha formação pessoal e profissional.

A Socorro, por toda atenção sempre. E também a todos os funcionários.

A todos aqueles que diretamente e indiretamente contribuíram para realização desse trabalho.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, em especial a todos os professores doo Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pelos ensinamentos transmitidos.

As fontes de fomentos, CAPES, CNPq e FACEPE.



## Prospecção de bactérias promotoras de crescimento de plantas de uma lagoa temporária do semiárido tropical

### RESUMO

Os ecossistemas aquáticos são importantes em regiões semiáridas, como no bioma Caatinga. Nesta região, a lagoa temporária é caracterizada por fases de inundação e secas. Na estação seca, as lagoas temporárias são capazes de sustentar uma alta produtividade e biodiversidade. A leguminosa *Mimosa bimucronata* é comum nesses ambientes pois é adaptada a solos com má drenagem e, é provável que exista a contribuição dos simbioss microbianos na tolerância a estresses específicos do habitat. Pesquisas relacionadas à caracterização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) nunca foram realizadas em lagoas temporárias do semiárido tropical. O objetivo deste trabalho foi isolar BPCPs associadas à rizosfera e ao solo adjacente da *M. bimucronata*, caracterizar os principais mecanismos de promoção de crescimento das BPCPs e avaliar o potencial biotecnológico dos isolados obtidos em promover o crescimento de *Zea mays* L sob 30% e 80% da capacidade de pote (CP). Foram isolados e caracterizados 355 isolados bacterianos.: 131 isolados do solo rizosférico (ISR); 97 isolados do solo adjacente (ISA); 104 isolados formadores de endósporo do solo rizosférico (IFESR) e 23 isolados formadores de endósporo do solo adjacente (IFESA). A partir dos isolamentos com base na caracterização fenotípica, os isolados foram agrupados a 70% de similaridade, obtendo 98 isolados. Dentre os 98 isolados avaliados, todos produziram ácido indol-acético AIA, 35 foram capazes de solubilizar fosfato de cálcio bi básico, porém nenhum isolado solubilizou o fosfato de alumínio, 94 foram capazes de produzir exopolissacarídeos (EPS) e 63 foram capazes de produzir biofilme. Baseado nestes mecanismos, foram selecionados 30 isolados mais promissores, e destes 17 foram capazes de fixar nitrogênio, 24 produziram ácido-1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) deaminase, 8 isolados cresceram em meio até 0,844 de atividade de água ( $A_w$ ) e 14 produziram quitinases. Além disso, os isolados que apresentaram maiores valores de um determinado mecanismo de promoção de crescimento de plantas, foram selecionados para constituir consórcios microbianos e foram avaliados em relação ao potencial de promover o crescimento do *Z. mays* L. Entre os consórcios, o destaque foi o C4, com um aumento de 65% da biomassa seca da raiz quando comparado ao controle sem inoculação (CSI). Os isolados 70 e 38 destacaram-se significativamente quando comparado aos demais isolados para o aumento da área foliar total. Para biomassa seca da raiz (BSR), os isolados 28-7 e 28-10, destacaram-se significativamente quando comparados aos demais tratamentos, sob condições de 80% de capacidade de pote. O isolado 43 destacou-se significativamente para o comprimento do caule, BSPA e BSR, demonstrando o potencial de promover o crescimento do *Z. mays* L. sob estresse hídrico (30% CP). Esses resultados indicam o potencial dos isolados nativos obtidos da *M. bimucronata* em uma lagoa temporária do semiárido tropical em promover o crescimento do milho.

**Palavras-Chave:** Micro-organismos. Inoculantes. Biotecnologia. Caatinga.



## Prospection of plant growth-promoting bacteria from plants of a temporary lagoon in a tropical semiarid region

### ABSTRACT

Aquatic ecosystems are important in semi-arid regions, such as the Caatinga's biome. In this region, the temporary lagoon is characterized by flood and dry phases. In the dry season, the temporary lagoon is capable of sustaining high productivity and biodiversity. The legume tree, *Mimosa bimucronata*, is common in these environments because it is adapted to soils with poor drainage. We guess that there is a strong contribution of the microbial symbionts in the tolerance to stresses supported by these plants in the lagoon environment. The bioprospection of plant-growth promoting bacteria (PGPB) have never been carried out in the temporary lagoon in a tropical semiarid. Our aim was to isolate PGPB associated with the rhizosphere and the adjacent soil of *M. bimucronata*, and characterize the main mechanisms of plant-growth promotion, and to evaluate the biotechnological potential of the isolates to promote *Zea mays* L. development under 30% and 80% of microcosm capacity (MC). We analyzed 355 bacterial isolates, which were separated as follows: 131 rhizospheric soil isolates (ISR); 97 isolates from adjacent soil (ISA); 104 rhizospheric soil endospore isolates (IFESR) and 23 adjacent soil endospores forming isolates (IFESA). Based on the phenotypic characterization, we choose 98 isolates for subsequent analysis. In that amount (98), all of them produced indole-acetic acid AIA, 35 solubilized bi-basic calcium phosphate, none solubilized aluminium phosphate, 94 produced exopolysaccharides (EPS) and 63 produced biofilm. Based on the last mechanisms, the best 30 isolates were selected, and in this amount (30), 17 were able to fix nitrogen, 24 produced 1-carboxylic acid-1-aminocyclopropane (ACC) deaminase, 8 grown in medium up to 0.844 water activity (Aw) and 14 produced chitinases. In addition, the isolates that presented the highest values of plant-growth promotion mechanisms were selected to perform a microbial consortium, which was inoculated in an experiment using *Z. mays* L. Among the consortia, the highlight was the C4, with a 65% increase of the dry biomass of the root when compared to the control without inoculation (CSI). Isolates 70 and 38 showed significantly effect when compared to the other isolates, mainly for the increase of the total leaf area. Regarding the dry root biomass (BSR), the isolates 28-7 and 28-10 were significantly different when compared to the other treatments under conditions of 80% pot capacity. Isolate 43 significantly enhanced the stem length, BSPA and BSR, demonstrating the potential to promote *Z. mays* L growth. under water stress (30% CP). These results indicate the potential of the native isolates obtained from *M. bimucronata* in a temporary lagoon in a tropical semiarid region for corn growth.

**Key-words:** Microorganisms. Inoculants. Biotechnology. Caatinga.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Localização da lagoa temporária no Município de Parnamirim –PE ..... 28
- Figura 2- Pontos de coletas de amostras do solo rizosférico e do solo adjacente do *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária, pertencente ao município de Parnamirim – PE 29
- Figura 3- População bacteriana cultivada a partir de amostras de solo rizosférico e solo adjacente de *Mimosa bimucronata*. As barras de erro indicam o desvio padrão das médias obtidas para as quatro repetições. L- Longitudinal e T- Transversal ..... 39
- Figura 4- População bacteriana cultivada formadora de endósporos a partir de amostras do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata*. As barras de erro indicam o desvio padrão das médias obtidas para as quatro repetições. Legenda: L- Longitudinal e T- Transversal ..... 40
- Figura 5- Caracterização fenotípica dos isolados bacterianos obtidos das amostras do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* ..... 42
- Figura 6- Caracterização fenotípica dos isolados bacterianos formadores de endósporo, obtidos das amostras de solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* ... 42
- Figura 7- Frequência da produção de AIA na presença de L-triptofano (5mM) dos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a produção de AIA: < 1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  baixa; 1 - 11  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  média; 11 - 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  alta e > 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  elevada..... 43
- Figura 8- Percentagem de isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a produção de AIA: < 1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  baixa 1 - 11  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  média; 11 - 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  alta e > 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  elevada. Chance da diferença entre SA e SR ser devida ao acaso, segundo o teste qui-quadrado. Onde 39 representam os ISA e 59 representam ISR..... 44
- Figura 9- Produção de AIA pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. As barras representam os desvios padrões das médias obtidas pelos agrupamentos formados, utilizando o programa PAST 3. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico..... 45
- Figura 10- Frequência da solubilização de fosfato de cálcio pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com o IS obtido: ( - ) não solubiliza; IS < 2 baixo; IS 2 - 4 médio e IS > 4 alto ..... 45
- Figura 11- Percentagem de isolados bacterianos selecionados (98), obtidos das amostras do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com o índice de solubilização: ( - ) não solubiliza; IS < 2 baixo; IS 2 - 4 médio e IS > 4 alto. Onde 39 representam os ISA e 59 representam ISR..... 46

Figura 12- Eficiência da solubilização de fosfato indicada pelo índice de solubilização (IS) pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. As barras representam os desvios padrões das médias obtidas pelos agrupamentos formados, utilizando o programa PAST 3. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico.....46

Figura 13- Frequência da produção de exopolissacarídeos (EPS) pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a produção de EPS; (x) ausência de produção; < 10mm baixa produção; 10 – 14mm média produção e > 14mm alta produção .....47

Figura 14- Percentagem de isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a produção de EPS; ausência de produção; < 10mm baixa produção; 10 – 14mm média produção e > 14mm alta produção. Onde 39 representam os ISA e 59 representam ISR .....48

Figura 15- Produção de EPS pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. As barras representam os desvios padrões das médias obtidas pelos agrupamentos formados, utilizando o programa PAST 3. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico .....48

Figura 16- Frequência da formação de biofilme pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a quantidade de biofilme formada baseada nos valores de absorvância obtidos, onde:  $DO_{560m} < 0,1$  ausência de formação;  $DO_{560m} 0,1 - 0,2$  Baixa formação;  $DO_{560m} 0,2 - 1,0$  Média formação e  $DO_{560m} > 1$  Alta formação .....49

Figura 17- Percentagem de isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a quantidade de biofilme formada baseada nos valores de absorvância obtidos, onde:  $DO_{560m} < 0,1$  ausência de formação;  $DO_{560m} 0,1 - 0,2$  Baixa formação;  $DO_{560m} 0,2 - 1,0$  Média formação e  $DO_{560m} > 1$  Alta formação. Onde 39 representam os ISA e 59 representam ISR.....50

Figura 18- Produção de biofilme pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. As barras representam os desvios padrões das médias obtidas pelos agrupamentos formados, utilizando o programa PAST 3. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico .....51

- Figura 19- Frequência da produção de  $C_2H_4.h^{-1}.mg^{-1}$  pelos isolados (30), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com; 0nmol de  $C_2H_4.h^{-1}.mg^{-1}$  proteína, não fixa nitrogênio; 0,1 – 11nmol de  $C_2H_4.h^{-1}.mg^{-1}$  proteína, baixa fixação de nitrogênio; 11 - 20nmol de  $C_2H_4.h^{-1}.mg^{-1}$  proteína, média fixação de nitrogênio e > 20nmol de  $C_2H_4.h^{-1}.mg^{-1}$  proteína, alta fixação de nitrogênio..... 51
- Figura 20- Atividade da nitrogenase dos isolados (30), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. Avaliados através da análise da redução do acetileno (ARA). Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ..... 52
- Figura 21- Frequência da produção de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase pelos isolados (30), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária..... 52
- Figura 22- Frequência do crescimento dos isolados (30) em meio de cultura contendo quitina como única fonte de Carbono, obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária..... 53
- Figura 23- Capacidade de síntese de quitinase pelos isolados (30), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. Avaliados através do índice de solubilização. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade..... 54
- Figura 24- Parte área de *Zea mays* L. A- Plantas inoculadas com os isolados 70 e 38. B- Plantas inoculadas com os consórcios 1 (16-2; 18; 43-1; 59-6 e 85); 4 (16-2 e 18) e 5 (16-2; 59-6 e 85) ..... 54
- Figura 25- Biomassa seca da raiz de *Zea mays* L. A- Plantas inoculadas com os isolados 28-7 e 28-10. B- Planta inoculada com o consórcio 4 (16-2 e 4)..... 55





## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Características dos isolados selecionados (30), para os testes de promoção de crescimento de *Zea mays* L. obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária..... 36
- Tabela 2- Consórcios bacterianos selecionados, a partir de isolados (30) que apresentaram melhores resultados *in vitro*, para os testes de promoção de crescimento de *Zea mays* L., sob 80% capacidade de pote ..... 37
- Tabela 3- Consórcios bacterianos selecionados, a partir de isolados (30) que apresentaram melhores resultados *in vitro*, para os testes de promoção de crescimento de *Zea mays* L., sob 30% capacidade de pote ..... 37
- Tabela 4- Promoção de crescimento de *Zea mays* L. sob 80 % de capacidade de pote, pelos isolados, obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. Valores médios obtidos de três repetições, para a avaliação da área foliar, comprimento do caule biomassa seca da parte aérea e da raiz. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ..... 56
- Tabela 5- Promoção de crescimento de *Zea mays* L. sob 30% de capacidade de pote, pelos isolados, obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. Valores médios obtidos de três repetições, para a avaliação da área foliar, comprimento do caule biomassa seca da parte aérea e da raiz. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ..... 58



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	21
1.1 Hipóteses .....	21
1.2 Objetivo geral .....	21
1.3 Objetivos específicos.....	22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	22
2.1 Região Semiárida do Nordeste Brasileiro.....	22
2.2 Lagoas temporárias do Semiárido Tropical .....	23
2.3 Maricá- <i>Mimosa bimucronata</i> (De Candolle) Otto Kuntze .....	24
2.4 Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) .....	25
2.4.1 Mecanismos diretos .....	25
2.4.2 Mecanismos indiretos .....	27
2.5 <i>Zea mays</i> L.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	28
3.1 Descrição da área de estudo.....	28
3.2 Coleta das amostras de solo .....	29
3.3 Procedimentos analíticos .....	29
3.3.1 Obtenção dos isolados bacterianos.....	29
3.3.2 Caracterização fenotípica e armazenamento dos isolados de bacterianos .....	30
3.3.3 Determinação de Gram.....	31
3.3.4 Seleção de bactérias com características de BPCPs .....	31
3.3.4.1 Avaliação quantitativa da produção de ácido indol-acético (AIA) .....	31
3.3.4.2 Avaliação da solubilização de fosfato de cálcio e alumínio.....	31
3.3.4.3 Avaliação qualitativa da produção de exopolissacarídeos (EPS).....	32
3.3.4.4 Formação de biofilme.....	32
3.3.4.5 Fixação biológica de nitrogênio “ <i>in vitro</i> ” .....	33
3.3.4.6 Determinação da presença da enzima 1-Aminociclopropano-1-Carboxilato (ACC) Deaminase .....	34
3.3.4.7 Crescimento em meio com reduzida atividade de água .....	35
3.3.4.8 Produção de quitinases .....	35
3.3.5 Promoção de crescimento de BPCPs em <i>Zea mays</i> L.....	35
3.3.6 Análises estatísticas .....	38

4 RESULTADOS .....	39
4.1 Isolamento e contagem das unidades formadoras de colônias das amostras de solo da rizosfera e do solo adjacente da <i>Mimosa bimucronata</i> .....	39
4.2 Caracterização fenotípica dos isolados bacterianos .....	40
4.3 Determinação de Gram .....	43
4.4 Seleção de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCPs).....	43
4.4.1 Produção de Ácido Indol Acético (AIA).....	43
4.4.2 Solubilização de Fosfato de Cálcio e Alumínio .....	45
4.4.3 Produção de exopolissacarídeos (EPS) .....	47
4.4.4 Formação de biofilme em superfície abiótica .....	49
4.4.5 Fixação biológica de nitrogênio “ <i>in vitro</i> ” .....	51
4.4.6 Produção de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase .....	52
4.4.7 Crescimento em meio com reduzida atividade de água .....	53
4.4.8 Produção de quitinases .....	53
4.5 Promoção de crescimento de BPCPs em <i>Zea mays</i> L.....	54
5 DISCUSSÃO .....	59
6 CONCLUSÃO.....	64
7 REFERÊNCIAS .....	64
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	79
APÊNDICE A - Dendrograma de similaridade com base nas características fenotípicas dos isolados do solo rizosférico da <i>Mimosa bimucronata</i> .....	81
APÊNDICE B - Dendrograma de similaridade com base nas características fenotípicas dos isolados do solo adjacente da <i>Mimosa bimucronata</i> .....	82
APÊNDICE C - Dendrograma de similaridade com base nas características fenotípicas dos isolados formadores de endósporo do solo rizosférico da <i>Mimosa bimucronata</i> .....	83
APÊNDICE D - Dendrograma de similaridade com base nas características fenotípicas dos isolados formadores de endósporo do solo adjacente da <i>Mimosa bimucronata</i> .....	84
APÊNDICE E – Identificação dos isolados bacterianos selecionadas a 70% de similaridade utilizando o Programa PAST .....	85
APÊNDICE F – Produção de AIA pelos isolados bacterianos selecionados, na presença de L-triptofano .....	86
APÊNDICE G – Índice de solubilização de fosfato de cálcio pelos isolados bacterianos selecionados.....	87
APÊNDICE H – Produção de exopolissacarídeos pelos isolados bacterianos selecionados ...	88
APÊNDICE I – Produção de biofilme pelos isolados bacterianos selecionados .....	89

APÊNDICE J – Meio de cultura King B (KING; WARD; RANEY, 1954).....	90
APÊNDICE L – Meio de cultura Tryptone Soya Broth (TSB).....	90
APÊNDICE M – Meio de cultura sólido para avaliar solubilização de fosfato de cálcio bibásico (VERMA; LADHA; TRIPATHI, 2001) .....	90
APÊNDICE N – Meio de cultura sólido para avaliar solubilização de fosfato de alumínio (HARA; OLIVEIRA, 2004) .....	90
APÊNDICE O – Meio de cultura modificado para avaliar produção de exopolissacarídeos (GUIMARÃES et al., 1999).....	90
APÊNDICE P – Meio de cultura para bactérias diazotróficas assimbiontes (DÖBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995).....	91
APÊNDICE Q – Meio de cultura M9 contendo o ácido 1 aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) como única fonte de nitrogênio (PENROSE; GLICK (2003) e SOUZA et al. (2012))	91
APÊNDICE R – Meio de cultura para avaliar a produção de quitinases (HSU; LOCKWOOD 1975).....	91



## 1 INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas, pesquisadores voltaram à atenção para o papel dos micro-organismos na mitigação de estresses abióticos em plantas. Um exemplo, é a utilização de bactérias promotoras do crescimento de plantas que diminuem o efeito do estresse hídrico, além de atuarem como biocontroladoras, biofertilizantes ou fitoestimuladoras, auxiliando na manutenção da fertilidade do solo, sendo esta uma abordagem ecológica e econômica. Para lidar com o uso excessivo de insumos, que acarretam em altos custos de produção e degradação e contaminação dos solos e aquíferos.

A utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas, auxiliam as plantas na aquisição de nitrogênio, fósforo e outros elementos minerais essenciais, além de moderar os níveis de hormônios nas plantas, e aumentar a tolerância das plantas a estresses como a seca, salinidade, temperatura, metais pesados, dentre outras.

Com a crescente necessidade de aumentar a produção agrícola, utilizando práticas econômicas e ambientalmente corretas, é importante identificar e caracterizar bactérias de ambientes afetados pelo estresse hídrico, pois elas podem apresentar potencial de promover tolerância ao estresse hídrico, sendo estas características importantes para serem utilizadas como bioinoculantes na promoção de crescimento do milho.

### 1.1 Hipóteses

Bactérias isoladas da rizosfera e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* têm potencial para promover o crescimento do *Zea mays* L., além de promover tolerância ao estresse hídrico;

Lagoas temporárias tropicais abrigam um grande potencial biotecnológico, de bactérias para serem utilizadas como inoculantes.

### 1.2 Objetivo geral

Isolar, caracterizar e avaliar bactérias promotoras de crescimento associadas à rizosfera e ao solo adjacente da *Mimosa bimucronata*, procedentes de uma lagoa temporária do Semiárido Tropical, e avaliar o potencial biotecnológico dos isolados obtidos em promover o crescimento de *Zea mays*.

### 1.3 Objetivos específicos

Isolar, caracterizar fenotipicamente BPCPs associadas à rizosfera e ao solo adjacente da *Mimosa bimucronata*;

Avaliar os mecanismos de promoção de crescimento das BPCPs por meio de análises bioquímica, *in vitro*, como: produção de ácido-3- acético (AIA); solubilização de fosfato; produção de exopolissacarídeos (EPS); formação de biofilme; análise da redução de acetileno (ARA); 1-aminocicloporpoano-1-carboxilato ACC deaminase (ACC); crescimento em meio com reduzida atividade de água (Aw); produção de quitinases;

Avaliar as BPCPs na promoção do crescimento do milho (*Zea mays*), sob duas condições de capacidade de pote 80% e 30%.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Região Semiárida do Nordeste Brasileiro

As zonas áridas e semiáridas representam 30% da superfície do globo terrestre, abrangendo cerca de 61 milhões km<sup>2</sup> (BARBOSA et al., 2012). O semiárido brasileiro é o mais extenso da América do Sul (KILL; TERAO; ALVAREZ, 2013) e ocupa 18,2% do território nacional, distribuindo-se principalmente por quase todos estados da região nordeste, estendendo-se ainda pela parte setentrional de Minas Gerais, abrangendo mais de 20% dos municípios brasileiros (1.135) e abrigando 11,84% da população do país (ARAÚJO FILHO, 2013).

O semiárido nordestino, segundo a classificação climática de Köppen-Geiger, se caracteriza por um clima Bsh - Clima Semiárido quente. Os atributos que caracterizam as regiões semiáridas são sempre de origem climática, hídrica e fitogeográfica: baixos níveis de umidade e elevada taxas de evaporação (2.000 mm ano<sup>-1</sup>), escassez de água com precipitações entre 250 e 800 mm ano<sup>-1</sup>; irregularidade temporal na distribuição das precipitações ao longo dos anos; prolongados períodos de carência hídrica; solos problemáticos do ponto de vista físico e geoquímico; e temperaturas médias anuais 23° a 27°C; e ausência de rios perenes, sobretudo no que se refere às drenagens autóctones (CASTRO; CAVALCANTE, 2011; MONTENEGRO; RAGAB., 2012; MAIA, 2012).

Devido à sazonalidade climática das regiões semiáridas do nordeste brasileiro, delimitam-se duas estações distintas, uma estação chuvosa curta e posteriormente um longo período de seca, que podem durar o restante do ano, podendo se estender por anos



(MONTENEGRO; RAGAB, 2012), causando impactos negativos sociais, econômicos e ambientais (MACEDO et al., 2010). Em muitas situações, para a sobrevivência da população, são utilizados rios, lagoas temporárias, açudes artificiais e os reservatórios naturais.

O principal bioma da região semiárida é a Caatinga, cuja a origem de sua palavra é derivada do tupi (“Kaa” = Mata, Floresta; “Tinga” = Branca), que constitui um tipo de vegetação característica do semiárido (CASTRO; CAVALCANTE, 2011). O estrato arbóreo é relativamente baixo, dispostas de árvores e de arbustos com caule fino, espinhoso e são decíduos na época seca. A vegetação neste ambiente é representada por formações xerófilas heterogêneas e de fisionomias e diversidades variadas, composta de uma vegetação que varia de aberta e arbustiva até fechada e florestal (ALVES; ARAÚJO; NASCIMENTO, 2009; MAIA, 2012; SANTOS et al., 2013). A Caatinga apresenta uma grande variedade de paisagens, relativa riqueza biológica (ARAÚJO; SILVA, 2010), riqueza de famílias botânicas sendo representadas principalmente pelas famílias Cactaceae, Fabaceae e as Euphorbiaceae (ARAÚJO FILHO, 2013), podendo citar na família Fabaceae espécies dos gêneros *Mimosa*, *Acacia* (QUEIROZ, 2006).

## **2.2 Lagoas temporárias do Semiárido Tropical**

Os ecossistemas aquáticos são imprescindíveis em regiões áridas, como na Caatinga, onde o ciclo de água ocorre com menor intensidade. Segundo Maltchik (1999), a região semiárida tem um total de 15.781 lagoas temporárias e sua distribuição é bastante heterogênea.

As lagoas temporárias são corpos de água naturais geralmente pequenos, caracterizados por fases de inundação e secas. Estas são inseridas na classificação mundial para zonas úmidas como *wetlands*. De acordo com a Convenção de RAMSAR (*The Convention on Wetlands of International Importance*) as lagoas ocupam depressões e geralmente estão localizadas em áreas rasas, com solo de drenagem impedida, presente em uma área de influência de um pequeno volume de água, que depende do equilíbrio entre entradas (precipitação, escoamento superficial e fluxos de águas subterrâneas) e saídas (evapotranspiração e infiltração) (PÉREZ-BILBAO; BENETTI; GARRIDO, 2000).

As lagoas temporárias são consideradas ecossistemas de vital importância na manutenção da produtividade e biodiversidade de várias plantas aquáticas raras e ameaçadas, macro invertebrados, anfíbios, sendo consideradas como uma zona de refúgio para diversas comunidades, mesmo quando seca totalmente no período de estiagem (WILLIAMS et al.,

1997; SCHWARTZ; JENKINS, 2000; SILVA; SONODA; RIBEIRO, 2008; CARDOSO et al., 2012). No entanto, os processos que mantêm a diversidade de espécies nos níveis locais e regional são ainda pouco compreendidos (ARANGUREN-RIAÑO; GUISANDE; OSPINA, 2011).

Alguns trabalhos já demonstraram a importância das lagoas temporárias do semiárido, como por exemplo, para o uso agrícola (CASAS et al., 2012); como rede de alimentação e reprodução de aves aquáticas migratórias e não migratória (SUE GARDNER, 2009); na sobrevivência de comunidades através da agricultura (SAKANÉ et al., 2013); na migração de mamíferos não-residenciais dependentes de água, répteis e anfíbios (MARTÍNEZ-LÓPEZ et al., 2014); como fonte de água doce (ELSHAFEI et al., 2015).

As lagoas quando secam por completo no período da estiagem são capazes de sustentar uma alta produtividade e biodiversidade (CHESTER; ROBSON, 2013), onde são encontradas diversas espécies de plantas adaptadas a estes ambientes, como exemplo a leguminosa *Mimosa bimucronata*.

### **2.3 Maricá- *Mimosa bimucronata* (De Candolle) Otto Kuntze**

O maricá [*Mimosa bimucronata* (DC)] pertence à família Fabaceae – *Mimosoideae*, e é também conhecida como alagadiço, amorosa, angiquinho, arranha-gato, espinheira, espinheira de cerca, dentre outros sinônimos. Esta espécie ocorre em diversos estados do Brasil em Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Ceará, Paraíba e no semiárido de Pernambuco, sendo descrita como, árvore ou arbusto arborescente, semicaducifólia a caducifólia, aculeada. Possui de 3 a 10 metros de altura e 10 a 25cm de diâmetro do caule, podendo atingir, quando adulta, 15 metros de altura e 40cm de diâmetro do caule (CARVALHO, 2004).

O Maricá é bem adaptado em solos mal drenados, com pH variando entre 4,0 e 5,0. Esta planta desenvolve associações simbióticas com bactérias e colonizações com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (PATREZE; CORDEIRO, 2004). Stoffel et al. (2016), avaliaram a inoculação de FMA em três leguminosas arbóreas, e constataram que a colonização micorrízica foi superior a 60% para o maricá, favorecendo o crescimento das leguminosas. Araújo; Carvalho; Moreira, (2017), avaliaram a capacidade de nodulação e eficiência simbiótica de estirpes de *Burkholderia* em três leguminosas arbóreas, e constataram que todas as estirpes testadas estabeleceram simbiose com o maricá favorecendo seu crescimento.

A eficiência das BPCPs pode ser influenciada pelas condições ambientais (SON et al., 2006), sendo assim, o maricá pode abrigar micro-organismos adaptados às condições de estresse. Estudos revelam que as plantas são capazes de modular seu microbioma da rizosfera, e recrutar bactérias resistentes ao estresse ambiental (BERENDSEN; PIETERSE; BAKKER, 2012). Portanto, este ambiente pode abrigar micro-organismos com potencial biotecnológico, com isto deve-se explorar este ambiente visando o desenvolvimento de inoculantes eficientes para a utilização na agricultura.

## **2.4 Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs)**

As BPCPs receberam atenção considerável nos últimos anos, devido aos seus mecanismos diretos (produção AIA; ACC; fixação biológica de nitrogênio (FBN); solubilização de fosfatos) que promovem o crescimento de plantas de duas maneiras: fitoestimulação e/ou biofertilização (BHARTI; BARNAWAL, 2019; NOCKER et al., 2012). Além dos mecanismos diretos, existem os mecanismos indiretos que promovem o crescimento das plantas, como exemplo, a tolerância à seca através da produção de biofilme; exopolissacarídeos (EPS); acumulação de osmólitos (MONIER; LINDOW, 2003; COLEMAN-DERR; TRINGE, 2014; CHERIF et al., 2015; GLICK, 2015).

### **2.4.1 Mecanismos diretos**

A principal auxina nas plantas é o ácido indol-3-acético, hormônio vegetal que regula vários processos celulares e de desenvolvimento dos vegetais (TSAVKELOVA et al., 2006; SPAEPEN; VANDERLEYDEN, 2011). Este hormônio pode ser produzido por micro-organismos, auxiliando no crescimento de plantas através do aumento da superfície e comprimento da raiz proporcionando maior acesso aos nutrientes do solo, além de influenciar nos mecanismos de defesa (VENTURI; KEEL, 2016; GOWTHAM et al., 2017).

O etileno atua como regulador do crescimento vegetal em baixas concentrações (VAN DE POEL; SMET; VAN DER STRAETEN, 2015). Porém, sua produção é regulada por estresses bióticos e abióticos, podendo levar a inibição do crescimento dos tecidos vegetais, acarretando em raízes mais curtas e senescência prematura (HARDOIM; VAN OVERBEEK; VAN ELSAS, 2008; MÜLLER; MUNNÉ-BOSCH, 2015; BARNAWAL et al., 2017). A enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase encontrada em BPCPs é responsável pela clivagem do precursor de etileno da planta, ACC, em amônia e  $\alpha$ -acetobutirato (GLICK et al., 2015; MAHDI DAR et al., 2018), reduzindo a quantidade de ACC

da planta que pode ser convertida em etileno. Neste contexto, as BPCPs com altas atividades de ACC deaminase são excelentes promotores de crescimento de plantas, devido a maior promoção de resistência a estresses (por exemplo, seca, salinidade, presença de bactérias patogênicas, etc.). (BAHADUR et al., 2016; BHARTI; BARNAWAL, 2019).

A utilização de bactérias na agricultura tem crescido devido ao seu potencial de fixação de  $N_2$ . A FBN ocorre pela ação do complexo enzimático nitrogenase, que é capaz de quebrar a tripla ligação do  $N_2$  reduzindo a duas moléculas de amônia ( $NH_3$ ) (CHOUDHARY; VARMA, 2017). Alguns resultados bem sucedidos do uso de espécies BPCP fixadoras de nitrogênio são relatados através da utilização *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacteria*, em culturas como milho, trigo e outras culturas agrícolas. Estes resultados foram obtidos tanto em laboratório quanto no campo em condições ecológicas variáveis (ABBASI et al., 2011; ALMAGHRABI et al., 2013; HUSSAIN et al., 2013; EL-SAYED; AKHKHA; EL-NAGGAR, 2014; LAVAKUSH et al., 2014; MEHTA et al., 2015).

O fósforo é um dos nutrientes inorgânicos mais requeridos pelas plantas (SHARMA et al., 2013). É essencial para o crescimento e desenvolvimento de plantas, uma vez que está envolvido em muitas funções importantes, tais como divisão celular, geração de novos tecidos dentre outras (DISSANAYAKA et al., 2018). Entretanto, o fósforo é altamente reativo com outros elementos, combinando-se facilmente a Fe e Al em solos ácidos e Ca em solos calcários. Além disso, os íons de fosfato podem formar complexos altamente estáveis com Fe, Al ou Mn que fazem parte dos coloides do solo (LIU et al., 2014; MAHDI DAR et al., 2018) ficando insolúvel e indisponível à absorção pelas plantas.

As BPCPs podem converter os fosfatos insolúveis em formas disponíveis para as plantas (PATHAK; KUMAR; RANI, 2017), através de processos de acidificação, reações de trocas, produção de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como ácido glucônico e cítrico, liberando o fosfato (LIU et al., 2014; NOVO et al., 2018). A lista de gêneros importantes de solubilizadores fosfato vem aumentando ao longo do tempo à medida que mais grupos de pesquisa se envolvem no rastreamento de possíveis rizobactérias. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Azotobacter*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium*, e *Erwinia* são exemplos de estirpes bacterianas eficientes (YU; LIU; ZHU, 2011; LAVAKUSH et al., 2014; PATHAK; KUMAR; RANI, 2017).

### 2.4.2 Mecanismos indiretos

A promoção de crescimento das plantas indiretamente ocorre quando uma bactéria limita ou impede o dano à planta, por exemplo, estresses causados pela seca (VACHERON et al., 2013). Sob condições de seca, ocorre uma seleção da comunidade bacteriana associada à rizosfera que dispõem de mecanismos que promovem uma maior tolerância (SCHMIDT et al., 2014; CHERIF et al., 2015), podendo citar a produção de biofilme, produção de exopolissacarídeos (EPS), acumulação de osmólitos (MONIER; LINDOW, 2003).

O biofilme pode ser entendido, como uma matriz com populações microbianas aderentes umas às outras e/ou a superfícies e interfaces, sendo a matriz composta por carboidratos extracelulares, proteína e até mesmo DNA (BRANDA et al., 2005; SENEVIRATNE et al., 2010), que auxiliam na proteção da planta contra estresses, como por exemplo, a dessecação. Os EPS também são produzidos pelas BPCPs (SOUZA; GARCIA-CRUZ, 2004), acumulando-se na superfície das células (NOCKER et al., 2012) e desempenham um papel importante no crescimento das plantas sob déficit hídrico (NADEEM et al., 2014; ROLLI et al., 2015). Os osmólitos podem ser açúcares como sorbitol, mio-inositol, trealose; aminoácidos como glicina, taurina, prolina, metilaminas como as betaínas (YANCEY, 2001). Os mesmos atuam de modo a aumentar a pressão osmótica citoplasmática, evitando a perda de água para o meio e também na estabilização de proteínas e membranas (McNEIL; NUCCIO; HANSON, 1999).

### 2.5 *Zea mays* L.

Diversos trabalhos comprovaram a contribuição de BPCPs para a produtividade do milho (HUNGRIA et al., 2010; FERREIRA et al., 2013; REPKE et al., 2013; QUADROS et al., 2014). Zahid et al. (2015), verificaram que a combinação *Bacillus* spp. mais fertilizante é eficiente para a nutrição do milho, sendo equivalente a adubação com apenas fertilizantes químicos. Hussain et al. (2013), avaliaram a eficiência de estirpes de RPCPs na cultura do milho, e verificaram aumentos significativos na altura da planta, comprimento da raiz, peso seco da raiz e rendimento de grãos.

O milho (*Zea mays* (L.)) é uma gramínea pertencente à família Poaceae. Esta cultura corresponde a 39,63% da produção nacional de grãos, sendo considerada de grande importância para o agronegócio Brasileiro (CONAB, 2016). O milho é mundialmente uma cultura básica para o consumo humano e forragem animal, que depende do alto consumo de fertilizantes minerais (RANUM; PEÑA-ROSAS; GARCIA-CASAL, 2014). Contudo, a

dependência aos fertilizantes químicos é dispendiosa, devido ao alto custo do produto e aos riscos associados ao uso indiscriminados desses insumos, como a eutrofização do solo e águas subterrâneas e a emissão de gases de efeito estufa (MALAJOVICH, 2011; CHIEN et al., 2011; DUNGAIT et al., 2012; MARKS et al., 2013; ROCHA et al., 2013). Além do mais, o milho é uma das culturas mais importantes em áreas semi-áridas do mundo (CAVERO et al., 2000).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição da área de estudo

A área de estudo foi uma lagoa temporária sem alteração antrópica, localizada no distrito de Veneza pertencente ao município de Parnamirim – PE, Brasil (Figura 1).



Figura 1- Localização da lagoa temporária no Município de Parnamirim –PE

A lagoa está inserida na Depressão Sertaneja, que representa a paisagem típica do Semiárido Tropical, caracterizada por uma superfície de pediplanação, relevo predominantemente suave-ondulado, cortada por vales estreitos, com vertentes dissecadas. A vegetação é basicamente composta por Caatinga Hiperxerófila com trechos de Floresta Caducifólia. O clima é Semiárido, com chuvas de verão. O período chuvoso se inicia em novembro com término em abril, onde a precipitação média anual é de 431,8mm (CPRM, 2005).

### 3.2 Coleta das amostras de solo

A coleta das amostras de solo foi realizada em fevereiro de 2017, a uma profundidade de 0-20cm, três pontos na rizosfera do maricá e três pontos no entorno da copa da mesma (1m considerado como solo adjacente), formando amostras compostas. O maricá foi escolhido por ser predominante no ambiente de lagoa temporária, e, segundo relatos de populares locais, a lagoa estava seca há aproximadamente cinco anos. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas, mantidas refrigeradas, e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foram mantidas refrigeradas (-20°C). No total, foram coletadas seis amostras de solo rizosférico (SR) e seis amostras do solo adjacente (SA) do maricá com seis repetições de campo. Os pontos de coletas foram selecionados próximos a perfis de solo classificados (L1, L2, L3, T1 e T2 Vertissolo e L4 Gleissolo) (Figura 2).



Figura 2- Pontos de coletas de amostras do solo rizosférico e do solo adjacente do *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária, pertencente ao município de Parnamirim – PE

### 3.3 Procedimentos analíticos

#### 3.3.1 Obtenção dos isolados bacterianos

Foram utilizadas as seis amostras de SR e SA para obtenção dos isolados. Para o isolamento bacteriano, foi adotado uma diluição seriada em fator 10, em solução salina (NaCl

0,85%) de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ , em meio de cultura King B (Apêndice J) (KING; WARD; RANEY, 1954).

Após o crescimento dos isolados, foi determinada a população de Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo (UFC.g<sup>-1</sup>). As colônias foram então selecionadas aleatoriamente e estriadas em placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura visando a purificação.

Bactérias formadoras de endósporos foram isoladas de forma similar, mas as diluições seriadas foram levadas a banho-maria a 80°C durante 20 minutos (BETTIOL, 1995).

### **3.3.2 Caracterização fenotípica e armazenamento dos isolados de bacterianos**

Após purificação, as colônias foram caracterizadas, quanto o tempo de crescimento (rápido – colônias isoladas apareciam até três dias; intermediário – colônias isoladas apareciam de quatro a seis dias e lenta – colônias isoladas apareciam depois de seis dias); tamanho da colônia (< 1; 1-2; 2-3; 3-4; >5); forma da colônia (circular ou irregular); transparência da colônia (opaca - quando não possui o brilho; translúcida - quando permite a passagem da luz através da placa; e transparente – quando além de permitir a passagem da luz, percebe-se claramente o que tem do outro lado); cor das colônias (branca, amarela, creme e transparente); presença de muco (sim ou não); quantidade de muco (muito, intermediária e pouco); tipo de muco (viscoso ou não produziu (X)) e elevação (muito elevada, levemente elevada, sem elevação) (VINCENT, 1970; HUNGRIA; ARAÚJO, 1994). Posteriormente, os isolados foram armazenados em freezer a -20°C, utilizando microtubos de 2mL, contendo 1mL de meio King B adicionado de 25% de glicerina, em triplicata.

Foram gerados dendrogramas de similaridade (70%) para todos os isolamentos, onde os dados da caracterização fenotípica obtidos foram utilizados para formação de uma matriz binária (1- positivo e 0 – negativo). O método de agrupamento utilizado foi UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), com base no índice de Jaccard, utilizando PAST (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001). Segundo Silva et al. (2018) o agrupamento baseado na caracterização fenotípica é um importante passo no processo de seleção de novos isolados, que será avaliado no processo de identificação, agrupamento e seleção, eficiência em substrato estéril, tendo em vista a limitação de trabalhar com todos isolados obtidos.



### 3.3.3 Determinação de Gram

Foi utilizado o método de Ryu proposto por Buck (1982). Foi utilizada uma solução a 3% (p/v) de hidróxido de potássio (KOH), em uma lâmina limpa, onde foi adicionado 30µL do mesmo. Com auxílio de um palito de dente foi transferido o muco bacteriano para a gota de KOH, o qual foi agitado de forma circular. Após 5-8 segundos, o palito foi elevado (até 1cm) para testar o efeito cordão ou fio.

A bactéria é considerada Gram negativa quando forma fio por 15 segundos, enquanto para bactéria Gram positiva a gota fica dispersa no KOH.

### 3.3.4 Seleção de bactérias com características de BPCPs

#### 3.3.4.1 Avaliação quantitativa da produção de ácido indol-acético (AIA)

Foi utilizado o método descrito por Kuss et al. (2007), com base na alteração de coloração das amostras devido à oxidação dos compostos indólicos, variando de amarelo (não oxidado) a vermelho (oxidado). Os isolados foram cultivados em meio Tryptone Soya Broth (TSB) (Apêndice L) suplementado com L-triptofano (5mM), no escuro por 24 horas à 30°C, sob agitação (150rpm). Foram então centrifugados (12.000rpm) 1,5mL da cultura dos isolados, durante 5 minutos. Posteriormente, foi transferido uma alíquota de 1mL do sobrenadante obtido para outro eppendorf, no qual foi adicionado 1mL do reagente de salkowski ( $\text{FeCl}_3$  0,5 mol.L<sup>-1</sup>, 1mL;  $\text{HClO}_4$  35%, 49mL) (SERGEEVA; LIAIMER; BERGMAN, 2002) sendo incubada por 30 min. na ausência de luz e avaliadas posteriormente utilizando espectrofotômetro à 520nm. A concentração de compostos indólicos foi estimada por meio de uma curva padrão, previamente preparada com meio de cultura estéril não inoculado, com quantidades conhecidas de AIA: 0,5; 10; 30; 50; 70; 90 e 100µg.mL, de acordo com a equação  $Y = 0,0121X - 0,0075$  ( $R^2 = 0,9995$ ). O ensaio foi realizado em triplicata. De acordo com a produção de AIA: < 1 µg.mL<sup>-1</sup> baixa; 1 - 11 µg.mL<sup>-1</sup> média; 11 - 50 µg.mL<sup>-1</sup> alta e > 50 µg.mL<sup>-1</sup> elevada (KAVAMURA et al., 2013).

#### 3.3.4.2 Avaliação da solubilização de fosfato de cálcio e alumínio

Os isolados foram inoculados em triplicata retirando-se uma porção de uma colônia isolada e realizando um leve toque no meio de cultura com auxílio da alça de platina. A formação do halo translúcido em torno da colônia indica a solubilização do fosfato. O halo foi medido com auxílio do paquímetro possibilitando calcular o índice de solubilização (IS) (BERRAQUERO et al., 1976). Com base nos índices de solubilização, os isolados foram

classificados como isolados com baixa ( $IS < 2$ ), média ( $2 < IS < 4$ ) e alta ( $IS > 4$ ) capacidade de solubilização (HARA; OLIVEIRA, 2004).

$$IS = \frac{\text{Diâmetro}_{\text{Halo}}}{\text{Diâmetro}_{\text{colônia}}}$$

A seleção de bactérias solubilizadoras de fosfato de cálcio bibásico foi realizada segundo a metodologia descrita por Verma; Ladha; Tripathi (2001) com modificações (Apêndice M). Os isolados foram incubados em meio de cultura sólido e incubados a 28°C por 72h.

A seleção de bactérias solubilizadoras de fosfato de alumínio foi realizada utilizando o método descrito por Hara; Oliveira (2004). Os isolados foram incubados em meio de cultura sólido (Apêndice N) incubados a 28°C por 15 dias.

#### **3.3.4.3 Avaliação qualitativa da produção de exopolissacarídeos (EPS)**

Foram inoculados 5µl dos isolados crescidos em meio (TSB) (10%) em discos de 5mmØ em meio de cultura modificado (Apêndice O) (GUIMARÃES et al., 1999). Os meios foram submetidos ao crescimento bacteriano a uma temperatura de 28°C durante 72h.

A produção de EPS foi caracterizada visualmente mediante medida do halo do EPS produzido com auxílio de um paquímetro digital, sendo + (pouca produção – halo de EPS ≤ 10mmØ), ++ (média produção - halo de EPS de 10-14mmØ) e +++ (ótima produção - halo de EPS ≥ 14mmØ) (KAVAMURA et al., 2013). A confirmação da produção de EPS foi realizada pelo método químico, misturando uma alça de platina impregnada com a colônia em 2mL de álcool etílico, quando ocorre a precipitação do EPS é então confirmada a produção de EPS, entretanto quando o álcool etílico fica turvo caracteriza a produção negativa de EPS (PAULO, 2010).

#### **3.3.4.4 Formação de biofilme**

A avaliação da formação de biofilme foi realizada de acordo com a metodologia descrita por O'Tolle; Kolter (1998) com modificações. O método baseia-se na capacidade das células de aderir às paredes de tubos de polipropileno de 1,5mL. A cada tubo, foram inoculados 100µl da cultura bacteriana a 900µl de meio de cultura TSB (10%), em triplicata. Após a inoculação, os tubos foram incubados a 40°C durante 96 horas. Posteriormente, o conteúdo de cada tubo foi aspirado com uma pipeta automática e os tubos foram lavados três vezes com 1000µl de água destilada esterilizada para remover as células não aderentes. A

água foi removida e os tubos foram deixados secar e posteriormente foram adicionados 1000µl de violeta de cristal (CV) a 0,1% durante 15min. O CV foi removido e os tubos foram lavados novamente três vezes com 1000µl de água destilada esterilizada para remover o excesso de corante.

Para quantificar a formação de biofilmes, foram adicionados 1000µl de etanol a 95% a cada tubo para solubilizar o tubo tingido de CV. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro (espectrofotômetro UV-visível: UV-1601 PC, Shimadzu) a 560nm. De acordo com a quantidade de biofilme formada baseada nos valores de absorbância obtidos, onde:  $DO_{560m} < 0,1$  ausência de formação;  $DO_{560m} 0,1 - 0,2$  Baixa formação;  $DO_{560m} 0,2 - 1,0$  Média formação e  $DO_{560m} > 1$  Alta formação.

Dos 98 isolados avaliados nos testes anteriores, foram selecionados 30 isolados avaliados nos ensaios de solubilização de fosfato de cálcio, produção de AIA, produção de EPS e formação de biofilme. Foram selecionados 8 isolados melhores produtores de AIA; 8 isolados melhores solubilizadores de fosfato de cálcio; 8 isolados que solubizam fosfato de cálcio e produzem AIA; 2 isolados produtores de EPS e AIA; 2 isolados produtores de biofilme e solubilizadores de fosfato de cálcio; 1 isolado por produzir EPS e biofilme e por fim foi selecionado 1 isolado que não apresentou bons resultados para os mecanismos citados.

O intuito dessa nova seleção foi à redução de custos da realização da avaliação da ARA, produção de ACC deaminase, crescimento em meio com reduzida atividade de água (Aw) e produção de quitinasas.

#### **3.3.4.5 Fixação biológica de nitrogênio “*in vitro*”**

Foi utilizada a análise de redução do acetileno (BODDEY; BODDEY; URQUIAGA, 1990). Os isolados foram cultivados em meio TSB 100% por 24 horas sob agitação de 150rpm a 28°C. Em seguida, as células foram lavadas duas vezes com solução salina para remover o N do meio. Após lavagem, foi realizada a inoculação de 100µL da suspensão em frascos de penicilina, em triplicata, contendo 5mL do meio de cultura JNFB (Apêndice P) (DÖBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995). Os frascos foram incubados por 72 horas a 30°C. Após a formação da película na superfície do meio de cultura, os frascos foram vedados e foi injetado 1mL de acetileno resultando em uma atmosfera de incubação de 20%. Os frascos foram incubados a 30°C por uma hora e em seguida, um volume de 1mL da atmosfera dos frascos foi retirado e injetado em cromatógrafo a gás Thermo Scientific, equipado com um detector de ionização por chama (250°C) e uma coluna N Poropak (120° C; Supelco,

Bellefonte, Pensilvânia, EUA). Controles negativos foram utilizados a partir da injeção no cromatógrafo de amostras gasosas não incubadas com isolados.

As taxas de redução de acetileno foram calculadas em nanomoles de acetileno reduzido por miligrama de proteína, por hora de incubação, representada pela seguinte equação:

$$\text{Nmol etileno. h}^{-1} = \frac{(S - C). V. P}{V^2. R. T. t}$$

Onde:

S= quantidade de etileno obtido na amostra após incubação com acetileno (ppm);

C= quantidade de etileno em frascos sem incubação com acetileno;

V= volume “headspace” nos frascos de incubação;

P= pressão de ar sob condições padrão (101300 Pa);

V<sup>2</sup>= volume de gás injetado na amostra;

R= constante de gás (8.314 J. mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>);

T= temperatura de incubação (°C);

t= tempo de incubação.

De acordo com; 0nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína, não fixa nitrogênio; 0,1 – 11nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína, baixa fixação de nitrogênio; 11 - 20nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína, média fixação de nitrogênio e > 20nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína, alta fixação de nitrogênio.

#### **3.3.4.6 Determinação da presença da enzima 1-Aminociclopropano-1-Carboxilato (ACC) Deaminase**

Foi determinada através da capacidade dos isolados crescerem em meio de cultura contendo o ácido 1 aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) como única fonte de nitrogênio, de acordo com Penrose; Glick (2003) e Souza et al. (2012). Os isolados foram cultivados em meio líquido TSB 100%, por dois dias, posteriormente foram centrifugados (12.000rpm) e lavados em solução salina 0,85% três vezes e por fim ressuspensos em 1mL de H<sub>2</sub>O milliQ autoclavada. Foi transferido 20µL de cada amostra para placas contendo meio de cultura mineral M9 (Apêndice Q) com e sem a adição de 3mM ACC como única fonte de nitrogênio. Os isolados foram incubados à 28°C por 10 dias e aqueles que apresentaram crescimento mais acentuado no meio M9 + ACC em comparação com o meio livre de ACC foram considerados como produtores de ACC deaminase. O ensaio foi realizado em triplicata.

#### **3.3.4.7 Crescimento em meio com reduzida atividade de água**

Foi avaliada a capacidade dos isolados crescer em meio de cultura King B adicionado de cinco concentrações de sorbitol, produzindo valores de  $A_w$  correspondentes a 0,998; 0,986; 0,957; 0,897 e 0,844, e incubados a 30° C durante 96 horas (KAVAMURA et al., 2013). Baseado no teste, foi verificado a capacidade dos isolados em crescer ou não em uma determinada concentração de sorbitol.

#### **3.3.4.8 Produção de quitinases**

Foi avaliada de acordo com o método qualitativo descrito por Hsu; Lockwood (1975), Os isolados foram repicados para o meio de cultura utilizando quitina como única fonte de carbono (Apêndice R). Foram estabelecidos dois isolados por placa com três repetições, totalizando seis colônias por placa. As placas foram incubadas a 28°C por 15 dias. A produção de quitinase foi determinada pela formação de um halo claro ao redor das colônias, que foi medido com auxílio de um paquímetro digital.

#### **3.3.5 Promoção de crescimento de BPCPs em *Zea mays* L.**

Após esses ensaios, foram instalados dois experimentos de modo a avaliar o potencial dos isolados selecionados, em promover o crescimento do *Z. mays* L.: o primeiro experimento simulando condição de estresse hídrico a 30% da capacidade de pote (CP). O segundo experimento avaliou os mesmos isolados, em vasos sem estresse a 80% da CP.

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, utilizando o delineamento blocos ao acaso, composto de seis tratamentos: controle solução nutritiva Hoagland; Arnon (1950) completa (CH), plantas sem inoculação bacteriana (CSI), bactérias recomendadas Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*) e Mix (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6), trinta e três isolados (Tabela 1) e cinco consórcios (80% CP (Tabela 2) e 30% CP (Tabela 3)). Dos trinta e três isolados, trinta foram selecionados de acordo com os critérios de seleção citados acima (Tópico 3.3.4.4), e três isolados (5, 32 e 79) foram selecionados por não apresentaram bom desempenho, *in vitro*, em nenhum dos mecanismos avaliados.

Tabela 1- Características dos isolados selecionados (30), para os testes de promoção de crescimento de *Zea mays* L. obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária

Isolados	AIA	IS	EPS	Biofilme	ARA	ACC	Aw	Quitinase
4	Média	Baixo	Baixa	Baixa	Média	-	0,844	x
13-3	Média	Baixo	Alta	Baixa	Alta	+	0,957	1,22
13-9	Alta	x	Alta	Média	x	-	0,897	x
16-2	Média	Médio	Alta	Baixa	Alta	+	0,957	1,32
18	Elevada	x	Baixa	Baixa	x	-	0,957	1,15
24	Média	Baixo	Alta	Baixa	Média	+	0,957	1,13
24-1	Elevada	x	Média	Média	Alta	+	0,957	x
28-7	Elevada	x	Baixa	Baixa	x	+	0,957	x
28-10	Elevada	x	Baixa	Baixa	Alta	+	0,844	1,27
38	Alta	x	Média	Média	Alta	+	0,957	1,24
43	Média	Baixo	Baixa	Baixa	x	+	0,957	1,35
43-1	Média	Médio	Média	Baixa	Alta	+	0,957	1,14
46-1	Elevada	Baixo	Média	Baixa	Alta	+	0,844	x
48	Elevada	Baixo	Média	Baixa	Alta	-	0,957	1,15
52	Alta	Baixo	Baixa	Média	x	+	0,957	x
54	Alta	Baixo	Média	Baixa	Alta	-	0,844	x
59	Elevada	x	Baixa	Baixa	x	+	0,897	1,22
59-3	Elevada	Baixo	Baixa	Média	Alta	+	0,844	x
59-6	Alta	x	Alta	Média	x	+	0,957	1,18
64	Elevada	Baixo	Média	Baixa	Alta	-	0,844	x
66-1	Média	Baixo	Alta	Média	x	+	0,957	1,36
66-2	Alta	x	Alta	Baixa	Baixa	+	0,957	x
66-3	Alta	Baixo	Média	Média	98,49	+	0,957	x
67-1	Alta	Baixo	Média	Baixa	Alta	+	0,844	1,16
70	Alta	Baixo	Média	Baixa	x	+	0,844	x
76-1	Média	Baixo	s/c	Baixa	x	+	0,957	x
79-1	Elevada	x	Média	Baixa	x	+	0,957	x
82	Alta	Baixo	Alta	Baixa	x	+	0,957	x
84	Alta	Baixo	Média	Baixa	Alta	+	0,897	1,26
85	Elevada	Baixo	Baixa	Média	x	+	0,957	x
<u>5</u>	Média	x	Baixa	Baixa	ND	ND	ND	ND
<u>32</u>	Média	x	Baixa	Baixa	ND	ND	ND	ND
<u>79</u>	Média	x	Baixa	Baixa	ND	ND	ND	ND

ND (não determinado); AIA; 1 - 11 $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (média); 11 - 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (alta) e > 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (elevada); IS: x (não solubiliza); IS < 2 (baixo); IS 2 - 4 (médio) e IS > 4 (alto); EPS: s/c (sem crescimento); < 10mm (baixa produção); 10 - 14mm (média produção) e > 14mm (alta produção); Formação de biofilme: DO<sub>560m</sub> < 0,1 (ausência de formação); DO<sub>560m</sub> 0,1 - 0,2 (Baixa formação); DO<sub>560m</sub> 0,2 - 1,0 (Média formação) e DO<sub>560m</sub> > 1 (Alta formação); ARA: 0nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína (não fixa nitrogênio); 0,1 - 11nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína (baixa fixação de nitrogênio); 11 - 20nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína (média fixação de nitrogênio) e > 20nmol de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína (alta fixação de nitrogênio); ACC: + (positivo) - (negativo)

Os consórcios bacterianos testados no experimento sem estresse hídrico foram selecionados com base nos isolados que apresentaram bom desempenho nas avaliações *in*

*vitro*. O isolado 16-2 foi selecionado por apresentar a maior produção de  $\text{nmol de C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ , além de apresentar características como médio IS, alta produção de EPS e ser positivo no teste de ACC. O isolado 18 foi selecionado devido ser o maior produtor de AIA. O isolado 43-1 foi selecionado devido apresentar o maior IS de fosfato além de apresentar uma alta produção de  $\text{nmol de C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ . O isolado 59-6 foi selecionado por apresentar a maior produção de EPS além de apresentar uma alta produção de AIA. O isolado 85 foi selecionado por apresentar a maior formação de biofilme, além de apresentar elevada produção de AIA. Na escolha dos isolados para montagem dos consórcios, buscou-se selecionar aqueles que equilibrassem em uma característica defasada. Por exemplo, o isolado 16-2 produz altos teores de  $\text{C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  proteína, porém, não foi o melhor produtor de AIA. O isolado 18 foi o maior produtor de AIA, porém, não fixa nitrogênio (Tabela 2).

Tabela 2- Consórcios bacterianos selecionados, a partir de isolados (30) que apresentaram melhor resultados *in vitro*, para os testes de promoção de crescimento de *Zea mays* L., sob 80% capacidade de pote

Consórcios	Isolado	Isolados	Isolados	Isolado	Isolado
C1	16-2	18	43-1	59-6	85
C2	16-2	18	43-1	59-6	-
C3	16-2	18	43-1	-	-
C4	16-2	18	-	-	-
C5	16-2	59-6	85	-	-

Para o experimento sob estresse hídrico, os consórcios diferiram apenas na substituição do isolado 85 pelo isolado 4 nos consórcios 1; 2; 3 e 4, enquanto que no C5 houve apenas a adição do isolado 4 (Tabela 3). O isolado 4 foi selecionado devido apresentar o melhor crescimento em meio com reduzida atividade de água ( $A_w$  0,844).

Tabela 3- Consórcios bacterianos selecionados, a partir de isolados (30) que apresentaram melhores resultados *in vitro*, para os testes de promoção de crescimento de *Zea mays* L., sob 30% capacidade de pote

Consórcios	Isolado	Isolados	Isolados	Isolados	Isolado
C1	16-2	18	43-1	59-6	4
C2	16-2	18	43-1	4	-
C3	16-2	18	4	-	-
C4	16-2	4	-	-	-
C5	16-2	59-6	85	4	-

Foram utilizados a cultivar AG 1051 de *Z mays* L., as mesmas foram desinfestadas superficialmente, através da imersão em álcool 70% por 3 minutos, hipoclorito de sódio 2%

por 7 minutos, álcool 70% por mais 1 minuto, seguido de 8 lavagens sucessivas com água destilada esterilizada.

As BPCPs foram inoculadas separadamente em tubos falcon com meio King B líquido e submetidas à agitação (150rpm) a 28°C por 24 horas. Decorrido o tempo de incubação, as concentrações bacterianas foram ajustadas para  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> ( $DO_{550} = 0,1$ ) com solução salina a 0,85% esterilizada. O plantio foi realizado em vasos de 2 litros de capacidade, utilizando substrato estéril de vermiculita e areia na proporção de 2:1, com 3 sementes por vaso. Cada semente recebeu a inoculação de 1mL do inóculo bacteriano. A irrigação foi realizada utilizando a solução nutritiva Hoagland; Arnon (1950) (adicionada de 20% de N) por pesagem, diariamente durante o final da tarde de modo a manter a 80% e 30% da CP. Após 16 dias foi realizado o desbaste deixando uma planta por vaso, totalizando 3 plantas por tratamento, e foi realizada uma co-inoculação com as mesmas bactérias nas plantas. Após a co-inoculação foi iniciado o estresse hídrico (30% CP).

Ambos os experimentos foram colhidos após 50 dias após o plantio sendo determinados comprimento do caule (CC), na área foliar total (AFT), no peso da biomassa seca da parte aérea (BSPA) e sistema radicular (BSR), obtidos após o acondicionamento em sacos de papel e seco em estufa de circulação de ar forçada a 60°C durante 72 horas, para ambos os experimentos.

### 3.3.6 Análises estatísticas

Todos os mecanismos que disporem de médias foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas utilizando-se o teste Skott Knott a 5% de probabilidade, por meio do programa SISVAR versão 5.1.

Todos isolados normais e formadores de endósporo do SR e do SA da *M. bimucronata*, avaliados para os mecanismos de produção de AIA, solubilização de fosfato de cálcio, produção de EPS e formação de biofilme, foram agrupados utilizando o programa PAST 3, as médias obtidas pelos representantes dos grupos formados, foram submetidas ao teste Skott Knott a 5% de probabilidade, por meio do programa SISVAR versão 5.1. Os mesmo também foram submetidos ao teste de qui-quadrado.

Para os experimentos de casa de vegetação, os dados AFT; CC; BSPA E BSR foram submetidos ao mesmo teste utilizado para os mecanismos, de modo a comparar os tratamentos com os controles utilizados.



## 4 RESULTADOS

### 4.1 Isolamento e contagem das unidades formadoras de colônias das amostras de solo da rizosfera e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata*

Os valores de UFC, expressos em  $\text{Log}_{10}$ , indicam que a população rizosférica foi geralmente superior a adjacente. De forma geral, os valores de UFC variaram entre  $4,57 \times 10^6$  a  $6,65 \times 10^8$  em SR e entre  $1,18 \times 10^6$  a  $1,69 \times 10^7$  em SA (Figura 3).

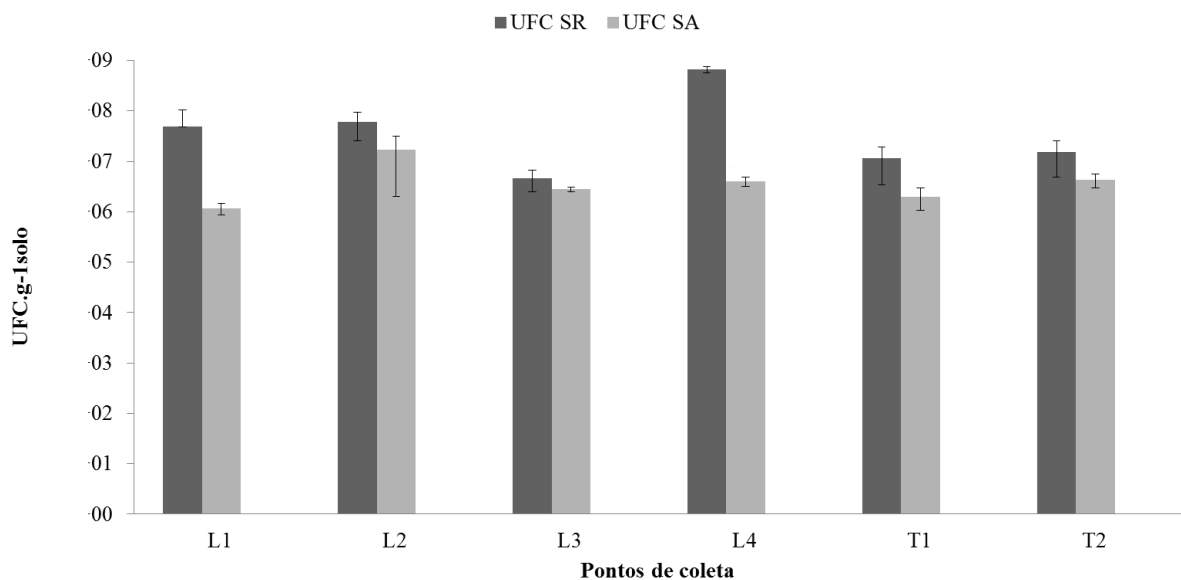


Figura 3- População bacteriana cultivada a partir de amostras de solo rizosférico e solo adjacente de *Mimosa bimucronata*. As barras de erro indicam o desvio padrão das médias obtidas para as quatro repetições. L- Longitudinal e T- Transversal

Para a população bacteriana formadora de endósporo, quatro pontos de coleta do SA (L2; L3; T1 e T2) apresentaram valores de UFC maiores quando comparados aos pontos de coleta do SR (Figura 4). Indicando uma maior população bacteriana formadoras de endósporo no solo adjacente. Os valores de UFC variaram de  $6,41 \times 10^5$  a  $3,15 \times 10^6$  para as amostras SR, enquanto para as amostras do SA variaram de  $9 \times 10^3$  a  $3,33 \times 10^6$  (Figura 4).

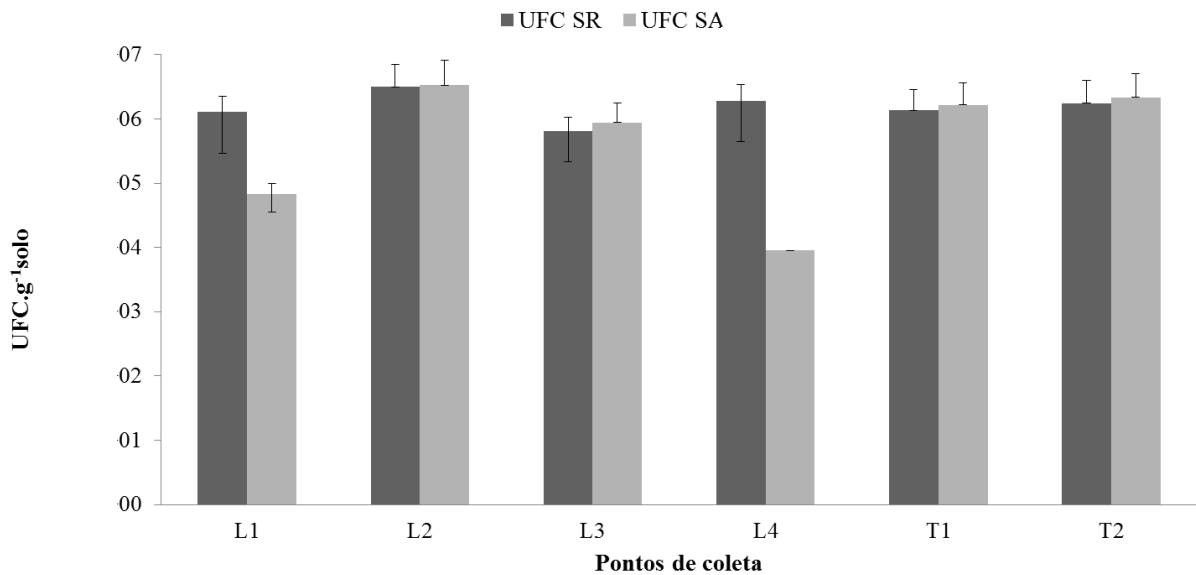


Figura 4- População bacteriana cultivada formadora de endósporos a partir de amostras do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata*. As barras de erro indicam o desvio padrão das médias obtidas para as quatro repetições. Legenda: L- Longitudinal e T- Transversal

#### 4.2 Caracterização fenotípica dos isolados bacterianos

Foram caracterizados 355 isolados: 131 isolados do solo rizosférico (ISR); 97 isolados do solo adjacente (ISA); 104 isolados formadores de endósporo do solo rizosférico (IFESR) e 23 isolados formadores de endósporo do solo adjacente (IFESA).

Nas amostras de ISR e do ISA foram verificadas uma maior frequência de isolados de crescimento rápido. Todos os ISR apresentaram crescimento rápido, enquanto que apenas 10% (8) dos ISA apresentaram crescimento lento. Quanto ao tamanho das colônias dos ISR, 40% (52) apresentaram tamanho entre 1 – 2mm e 32% (42) entre 2 – 3mm, enquanto que 50% (49) ISA apresentaram tamanho entre 1 – 2mm e 20% (20) apresentaram tamanho entre 2 – 3mm. Quanto à forma das colônias bacterianas, 52% (69 ISR; 51 ISA) foram de forma irregular e 48% (62 ISR; 46 ISA) foram de forma circular em ambos os ambientes. Quanto às demais características fenotípicas avaliadas, houve semelhanças nos resultados obtidos em ambos os nichos, onde mais de 50% (76 ISR; 52 ISA) dos isolados obtidos são translúcidos, mais de 65% (101 ISR; 65 ISA) das colônias são de cor creme, 65% (85 ISR; 63 ISA) dos isolados produzem muco, dos isolados identificados como produtores de muco mais de 52% (79 ISR; 51 ISA) produzem muco em pouca quantidade, 65% (85 ISR; 64 ISA) dos isolados que produzem muco é do tipo viscoso e mais 80% (107 ISR; 86 ISA) dos isolados possuem uma baixa elevação (Figura 5).

Com base nas características fenotípicas dos IFESR e IFESA, todos os isolados apresentaram crescimento rápido para ambos os nichos. Quanto ao tamanho das colônias dos

IFESR, 29% (30) dos isolados apresentaram tamanho entre 2 – 3mm e 26% (27) entre 3 – 4mm, enquanto que mais de 50% (13) dos IFESA apresentaram tamanho variando entre 1 – 2mm. Quanto à forma 93% (97) IFESR apresentaram forma irregular e apenas 7% (7) circular, enquanto que 56% (13) IFESA apresentaram forma irregular e 44% (10) forma circular. Quanto à transparência das colônias 59% (62) foram opacas; 38% (40) translúcida e apenas 2% (2) são transparentes para os IFESR. As transparências das colônias dos IFESA apresentaram resultados semelhantes, onde 47% dos isolados foram opacas e 47% translúcida enquanto apenas 4% (1) foram transparentes. Mais de 70% (78 IFESR; 17 IFESA) das colônias são de cor creme em ambos os nichos de isolamento. Quanto à presença de muco dos IFESR apenas 40% (42) foi capaz de produzir, enquanto que para IFESA 56% (13) produziram muco. Para ambos os nichos de isolamentos foram verificados a predominância de baixa produção de muco 38% (40) IFESR e para 56% (13) IFESA, onde todos os isolados produziram muco do tipo viscoso, sendo 40% (42) IFESR e 56% (13) IFESA. Quanto à elevação das colônias 75% (78) dos IFESR foram de leve elevação enquanto que para IFESA 100% (23) foram de leve elevação (Tabela 6).

Os isolados foram agrupados de acordo com as características fenotípicas e distribuídos em grupos a 70% de similaridade, separadamente para cada grupo de bactérias gerando 42 grupos de ISR; D2– formou 27 grupos de ISA; D3 – 12 grupos de IFESR; e D4 – 6 grupos de IFESA (Apêndices A; B; C; D). Foi selecionado um isolado bacteriano representante de cada grupo formado a 70% de similaridade. Porém, vários representantes selecionados não cresceram em meio de cultura, com isto, foram selecionados novos isolados com o objetivo de avaliar cerca de 100 isolados. Para isto, mais de um isolado bacteriano foi selecionado aleatoriamente por grupo. Foi então realizada novamente uma repicagem com os novos isolados selecionados para confirmar o crescimento em meio de cultura dos mesmos. Por fim, 98 isolados foram selecionados para o desenvolvimento das análises deste trabalho.

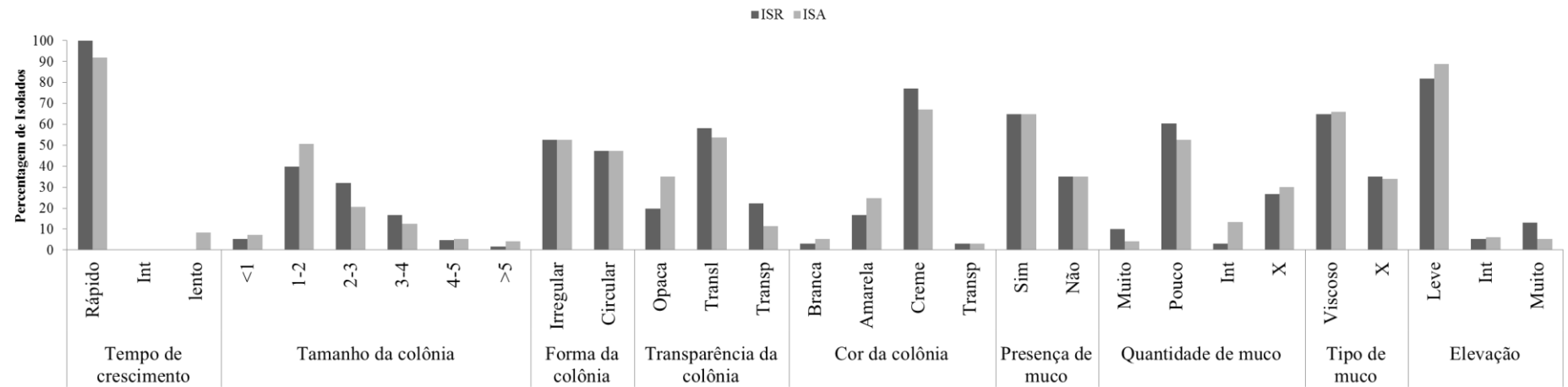


Figura 5- Caracterização fenotípica dos isolados bacterianos obtidos das amostras do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata*

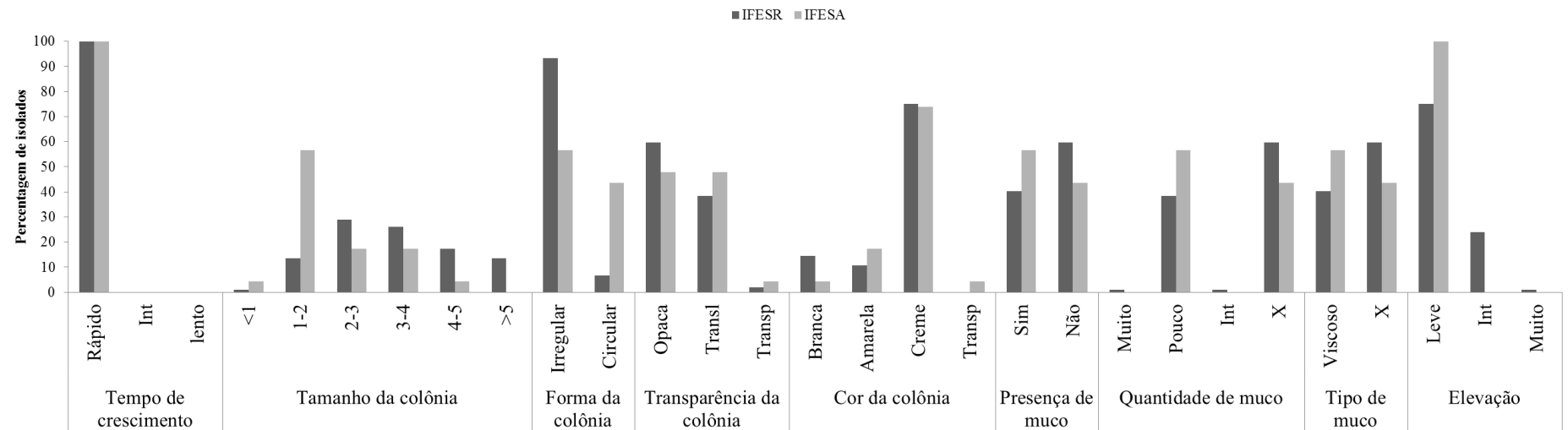


Figura 6- Caracterização fenotípica dos isolados bacterianos formadores de endósporo, obtidos das amostras de solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata*

### 4.3 Determinação de Gram

Foi verificado que 75% (74) dos isolados bacterianos são Gram-positivos e 25% (24) são Gram-negativos.

Em ambos os nichos, os isolados bacterianos Gram-positivos predominaram. Apenas 12% (4) dos isolados bacterianos formadores de endósporo foram Gram-negativas. Os isolados bacterianos obtidos dos isolamentos do SA 72% (28) foram determinados Gram-positivos, enquanto que os obtidos dos isolamentos do SR 78% (46) foram determinados Gram-positivos.

### 4.4 Seleção de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCPs)

#### 4.4.1 Produção de Ácido Indol Acético (AIA)

Houve produção de AIA ( $> 1,0\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) por todos os isolados. Cerca de 44% (43) dos isolados produziram AIA em média concentração, enquanto que 17% dos isolados (17) produziram AIA em elevada concentração (Figura 7).

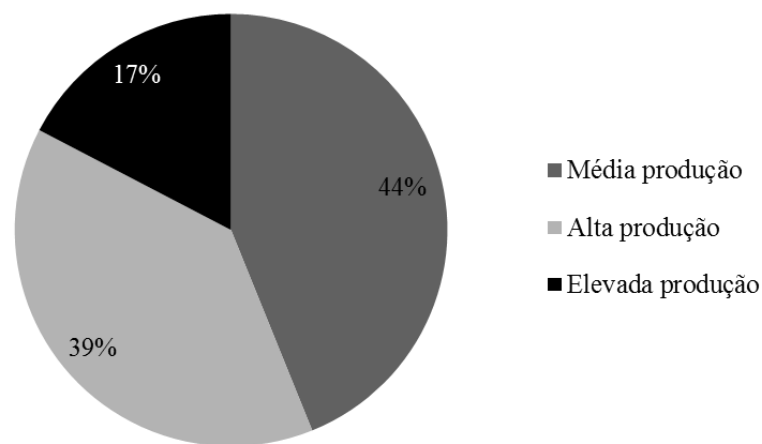


Figura 7- Frequência da produção de AIA na presença de L-triptofano (5mM) dos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a produção de AIA:  $< 1\mu\text{g.mL}^{-1}$  baixa;  $1 - 11\mu\text{g.mL}^{-1}$  média;  $11 - 50\mu\text{g.mL}^{-1}$  alta e  $> 50\mu\text{g.mL}^{-1}$  elevada

A chance da diferença entre a produção média de AIA pelos isolados, obtidos do SA e do SR, ter ocorrido devido ao acaso é de 62%. Por outro lado, para os isolados que produziram AIA em alta concentração, a chance é de 51% e os isolados que produziram AIA em elevada concentração é de 53%, segundo o teste qui-quadrado (Figura 8).

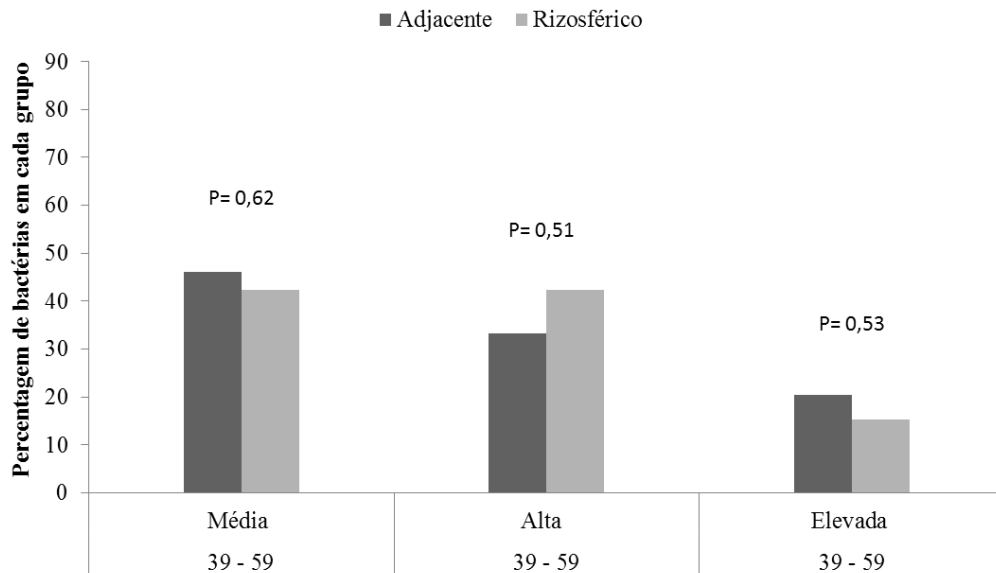


Figura 8- Percentagem de isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a produção de AIA:  $< 1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  baixa 1 -  $11 \mu\text{g.mL}^{-1}$  média; 11 -  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  alta e  $> 50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  elevada. Chance da diferença entre SA e SR ser devida ao acaso, segundo o teste qui-quadrado. Onde 39 representam os ISA e 59 representam ISR

A produção de AIA pelos isolados variou entre  $1,03$  e  $118 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Os ISR selecionados que produziram os maiores níveis de AIA foram 59-3; 59; 64; 79-1 e 85 os quais produziram AIA acima de  $90 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , os mesmos formaram o G3 que foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos ISR. Dentre todos isolados selecionados, o maior produtor de AIA foi o IFESR 18, produzindo  $118 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , sendo o único representante do G2 que foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos IFESR (Figura 9).

Os ISA que produziram os maiores níveis de AIA foram 24-1; 28-10 e 28-7, os quais produziram AIA acima  $110 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , os mesmos formaram o G3 que foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos ISA. Quanto aos IFESA selecionados, o maior produtor de AIA foi o isolado 6-1 produzindo  $15 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , sendo o único representante do G2 que foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos IFESA (Figura 9).

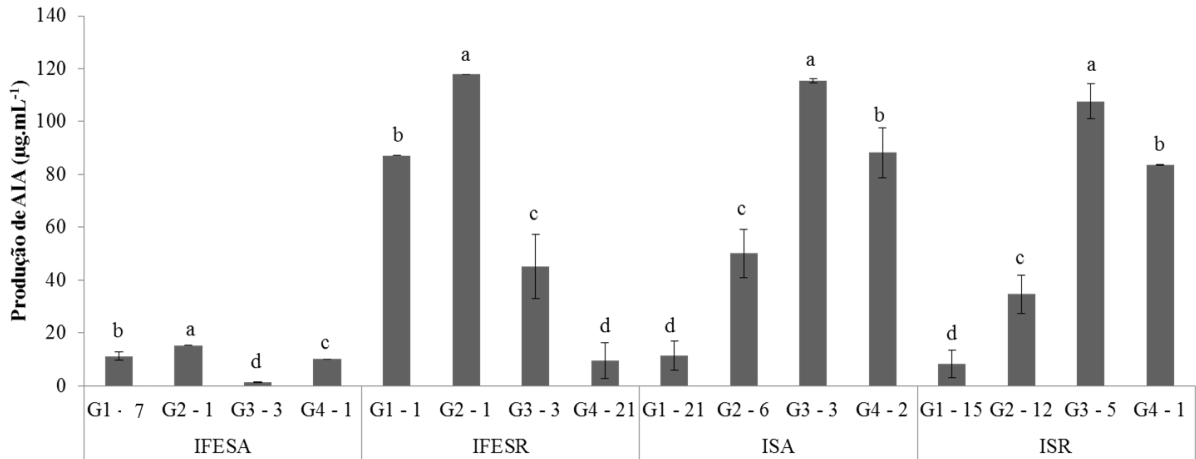


Figura 9- Produção de AIA pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. As barras representam os desvios padrões das médias obtidas pelos agrupamentos formados, utilizando o programa PAST 3. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico

#### 4.4.2 Solubilização de Fosfato de Cálcio e Alumínio

Dos 98 isolados selecionados 36% (35) foram capazes de forma halo de solubilização de fosfato de cálcio enquanto que nenhum solubilizou fosfato de alumínio. Sendo que, 34% (33) apresentaram índice de solubilização (IS) baixo, 2% (2) IS média e nenhum isolado foi capaz de apresentar um IS alto (Figura 10).

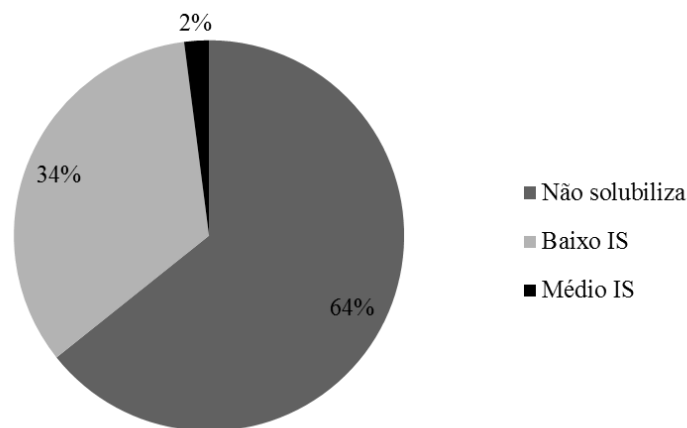


Figura 10- Frequência da solubilização de fosfato de cálcio pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com o IS obtido: ( - ) não solubiliza; IS < 2 baixo; IS 2 - 4 médio e IS > 4 alto

A chance da diferença entre os isolados selecionados obtidos do SA e SR que não solubilizaram fosfato de cálcio, ter ocorrido devido ao acaso é de 28%, enquanto para os isolados que apresentaram IS baixo é de 13% e os isolados que apresentaram IS médio foi de 62%, segundo o teste qui-quadrado (Figura 11).

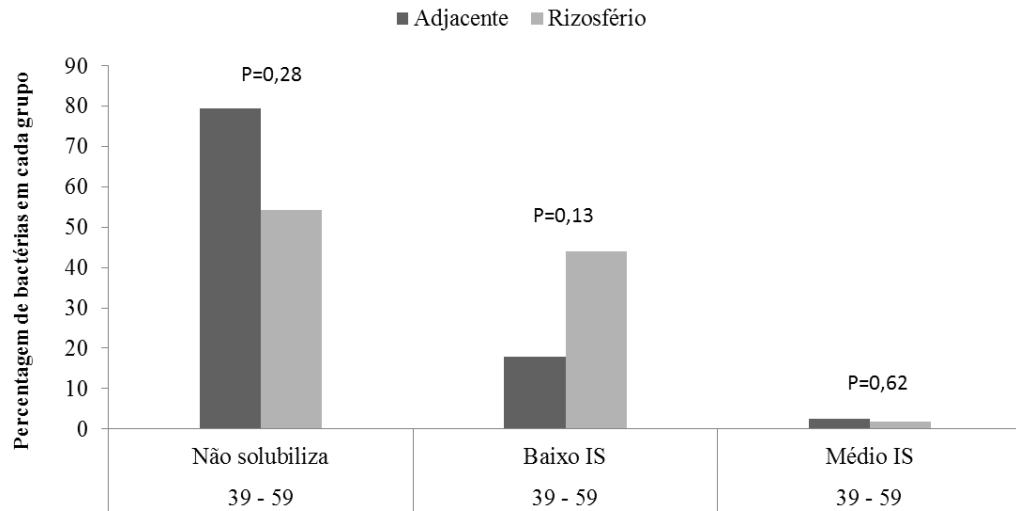


Figura 11- Percentagem de isolados bacterianos selecionados (98), obtidos das amostras do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com o índice de solubilização: ( - ) não solubiliza; IS < 2 baixo; IS 2 - 4 médio e IS > 4 alto. Onde 39 representam os ISA e 59 representam ISR

Os IS obtidos pelos isolados selecionados que apresentaram resposta positiva, variaram entre 1,06 e 2,33. Os ISR selecionados, que produziram os maiores IS foram 76-1; 78; 65; 54 e 82 apresentando IS acima de 1,42, representando o G3 sendo significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos ISR. Quanto aos IFESR selecionados, os isolados 16-2 e 13-3, apresentando IS de 2,01 e 1,98, formando o G3 sendo significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos IFESR (Figura 12).

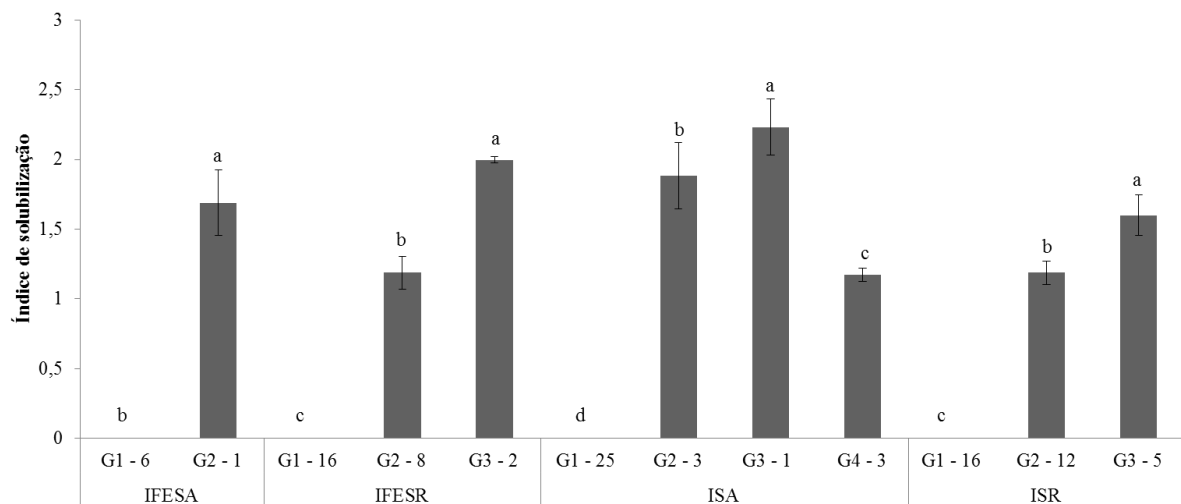


Figura 12- Eficiência da solubilização de fosfato indicada pelo índice de solubilização (IS) pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. As barras representam os desvios padrões das médias obtidas pelos agrupamentos formados, utilizando o programa PAST 3. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico



O isolado que apresentou o maior IS foi o ISA 43-1, com IS de 2,23 sendo o único representante do G3, o mesmo foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos ISA. Quanto aos IFESA selecionados, o único isolado que foi capaz de solubilizar fosfato de cálcio foi o isolado 4, representante do G2, apresentando IS de 1,69 (Figura 12).

#### 4.4.3 Produção de exopolissacarídeos (EPS)

Dos 98 isolados 91 foram capazes de formar EPS. Dos isolados que apresentaram produção de EPS, 38% (37) produziram baixo EPS, 38% (37) produziram médio EPS e 20% (20) dos isolados bacterianos tiveram uma alta produção de EPS (Figura 13).

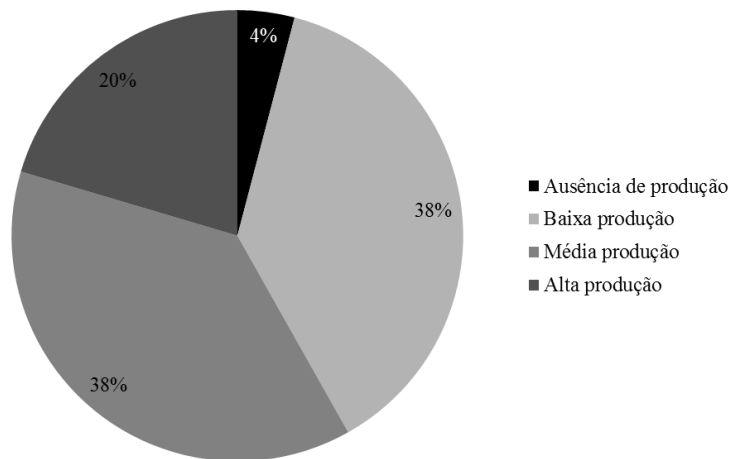


Figura 13- Frequência da produção de exopolissacarídeos (EPS) pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a produção de EPS; (x) ausência de produção; < 10mm baixa produção; 10 – 14mm média produção e > 14mm alta produção

A chance da diferença entre os isolados selecionados obtidos do SA e SR que não produziram EPS, ter ocorrido devido ao acaso é de 53%, enquanto para os isolados que apresentaram baixa produção de EPS é de 10%, para os isolados que apresentaram média produção foi de 45% e para os isolados que apresentaram alta produção de EPS foi de 20%, segundo o teste qui-quadrado (Figura 14).

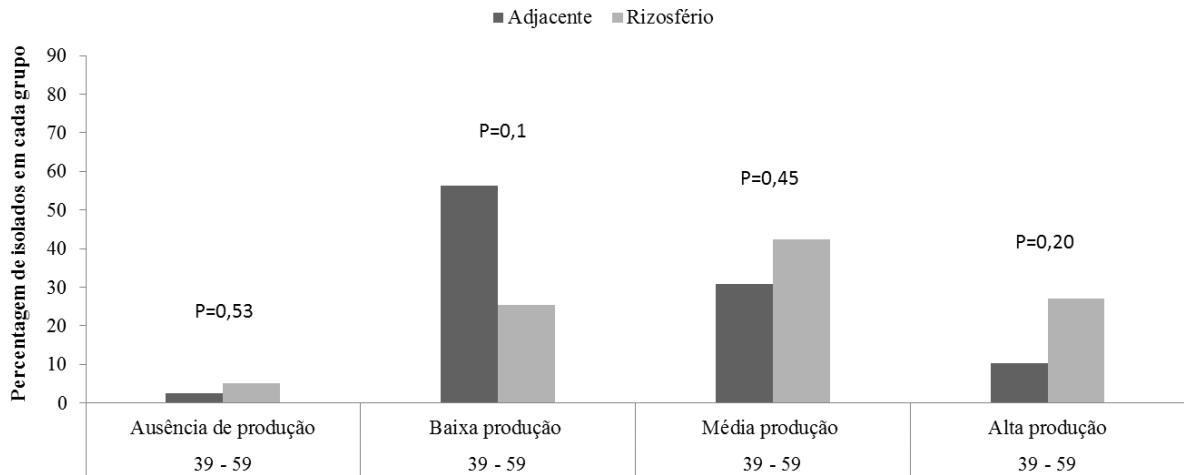


Figura 14- Percentagem de isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a produção de EPS; ausência de produção; < 10mm baixa produção; 10 – 14mm média produção e > 14mm alta produção. Onde 39 representam os ISA e 59 representam ISR

A produção de EPS variou entre 7,67mm e 35,17mm. Dentre os ISR selecionados, o isolado 59-6 foi o único representante do G4, apresentando tamanho da colônia de 32,33mm, sendo significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos ISR. Dentre todos isolados selecionados, o maior produtor de EPS foi o IFESR 10, apresentando tamanho da colônia de 35,17mm, o mesmo foi o único representante do G3 sendo significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos IFESR (Figura 15).

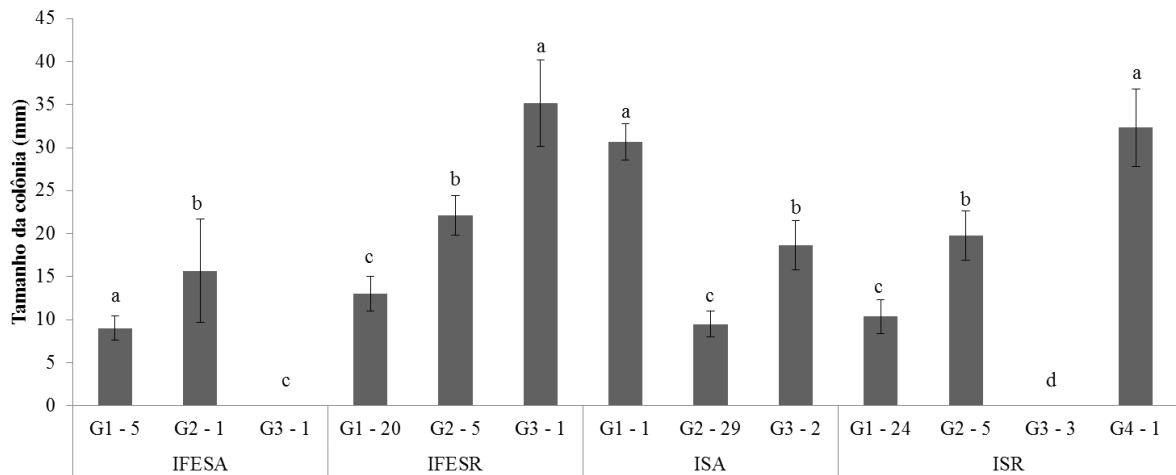


Figura 15- Produção de EPS pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. As barras representam os desvios padrões das médias obtidas pelos agrupamentos formados, utilizando o programa PAST 3. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico

Dentre os ISA selecionados, o isolado 29 produziu alta quantidade de EPS (30,67mm) formando o G1 que é significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos

ISA. Quanto aos IFESA, o maior produtor de EPS foi o isolado 6-1 que apresentou tamanho da colônia de 15,67mm, sendo o único representante do G2 que foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos IFESA (Figura 15).

#### 4.4.4 Formação de biofilme em superfície abiótica

Dos 98 isolados 36% (35) não produziram biofilme, enquanto que 37% (36) dos isolados apresentaram baixa formação, 25% (25) apresentaram média formação e apenas 2% (2) apresentaram alta produção de biofilme (Figura 16).

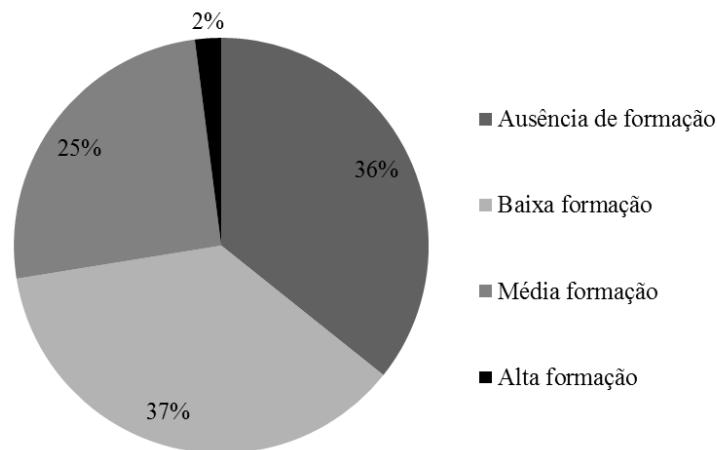


Figura 16- Frequência da formação de biofilme pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a quantidade de biofilme formada baseada nos valores de absorvância obtidos, onde:  $DO_{560m} < 0,1$  ausência de formação;  $DO_{560m} 0,1 - 0,2$  Baixa formação;  $DO_{560m} 0,2 - 1,0$  Média formação e  $DO_{560m} > 1$  Alta formação

A chance da diferença entre os isolados selecionados do SA e SR que não formaram biofilme, ter ocorrido devido ao acaso é de 60%, enquanto para os isolados que apresentaram baixa formação de biofilme é de 63%, para os isolados que apresentaram média formação 60% e para os isolados que apresentaram alta formação de biofilme 38%, segundo o teste qui-quadrado (Figura 17).

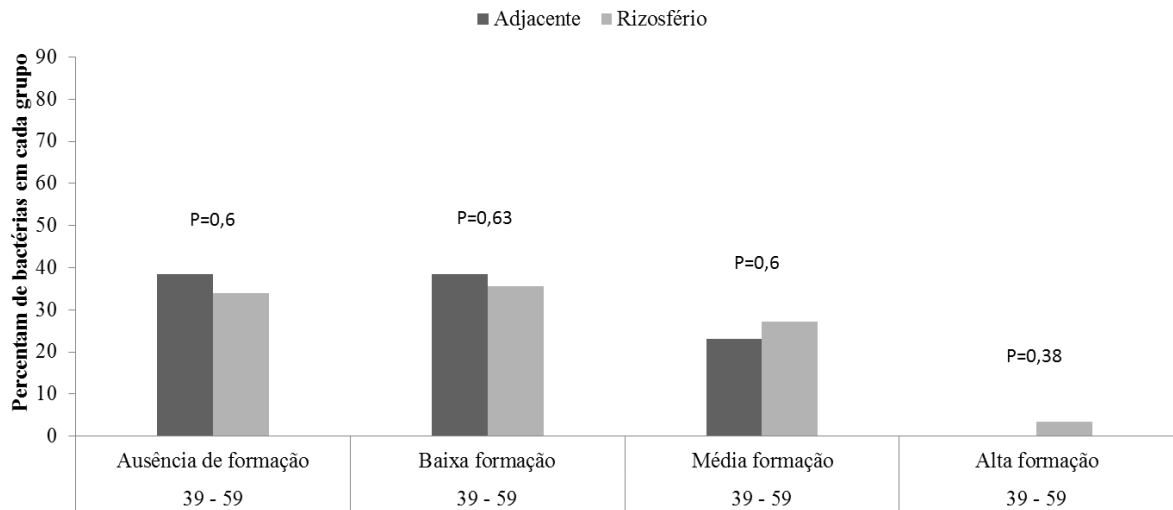


Figura 17- Percentagem de isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com a quantidade de biofilme formada baseada nos valores de absorbância obtidos, onde:  $DO_{560m} < 0,1$  ausência de formação;  $DO_{560m} 0,1 - 0,2$  Baixa formação;  $DO_{560m} 0,2 - 1,0$  Média formação e  $DO_{560m} > 1$  Alta formação. Onde 39 representam os ISA e 59 representam ISR

A produção de biofilme pelos isolados selecionados que apresentaram resposta positiva ao teste variou entre 0,1 a 1,24  $DO_{560m}$ . Dentre todos isolados selecionados o maior produtor de biofilme foi o 67, apresentando uma  $DO_{560m}$  de 1,24, único representante do G2 sendo significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos ISR. Entretanto, o 13-9 representante do G3, também obteve uma elevada produção de biofilme ( $DO_{560m} 1,14$ ), onde o mesmo foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos IFESR (Figura 18).

Dentre os ISA selecionados, o isolado 40 obteve uma média produção de biofilme ( $DO_{560m} 0,957$ ) sendo o único representante do G3, grupo este que é significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos ISA. Quanto aos IFESA selecionados, o maior produtor de biofilme foi o isolado 3, único representante do G2 que foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos formados pelos IFESA (Figura 18).

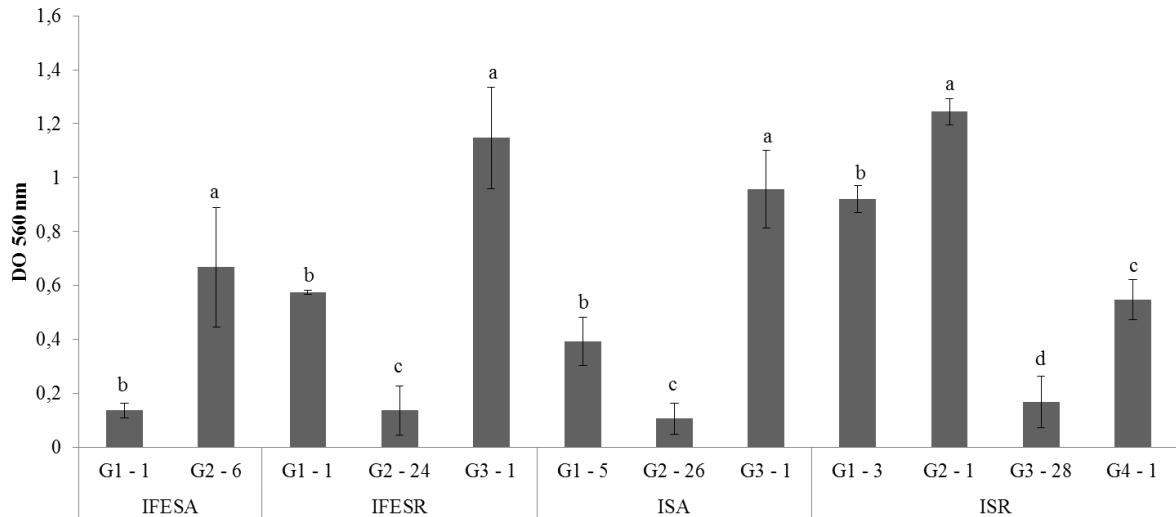


Figura 18- Produção de biofilme pelos isolados (98), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. As barras representam os desvios padrões das médias obtidas pelos agrupamentos formados, utilizando o programa PAST 3. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico

#### 4.4.5 Fixação biológica de nitrogênio “*in vitro*”

Dos 30 isolados selecionados, 19 formaram película e foram submetidos ao teste de redução de acetileno (ARA). Dos isolados testados 10% (2) não foram capazes de reduzir o acetileno a etileno, não podendo ser considerados diazotróficos. Contudo, 74% (14) dos isolados submetidos ao teste ARA apresentaram alta fixação de Nitrogênio (N) (Figura 19).

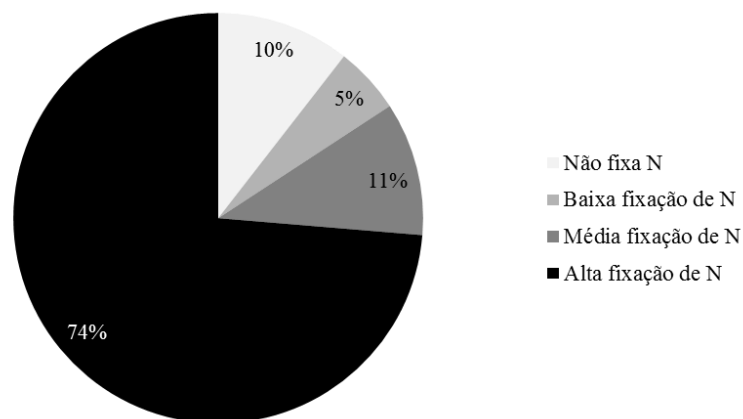


Figura 19- Frequência da produção de  $C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1}$  pelos isolados (30), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. De acordo com;  $0 \text{ nmol de } C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1}$  proteína, não fixa nitrogênio;  $0,1 - 11 \text{ nmol de } C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1}$  proteína, baixa fixação de nitrogênio;  $11 - 20 \text{ nmol de } C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1}$  proteína, média fixação de nitrogênio e  $> 20 \text{ nmol de } C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1}$  proteína, alta fixação de nitrogênio

Em termos quantitativos, a atividade da nitrogenase variou entre 8 a  $98 \text{ nmol de } C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1}$  proteína. Os isolados 66-3 e 16-2 se destacaram produzindo altos teores,

maiores que 90 nmol de  $C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1}$  proteína. O controle, contendo o meio JNFB, apresentou concentração nmol de  $C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot mg^{-1}$  de proteína, maior que tratamentos que continham isolados (Figura 20).

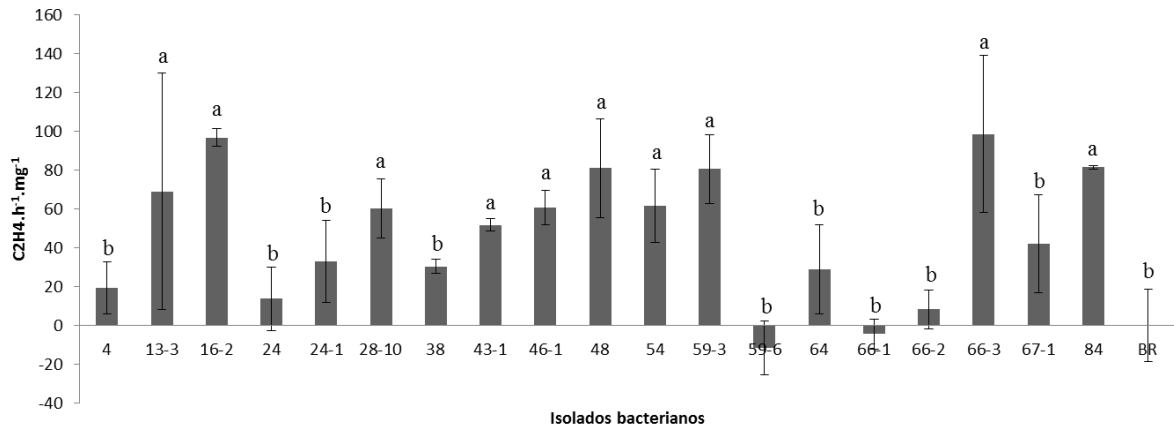


Figura 20- Atividade da nitrogenase dos isolados (30), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. Avaliados através da análise da redução do acetileno (ARA). Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

#### 4.4.6 Produção de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase

Dos 30 isolados selecionados 80% (24) foram capazes de crescer em meio M9+ACC como única fonte de nitrogênio indicando que provavelmente possuem a enzima ACC deaminase, que cliva o composto ACC, precursor do etileno (Figura 21).

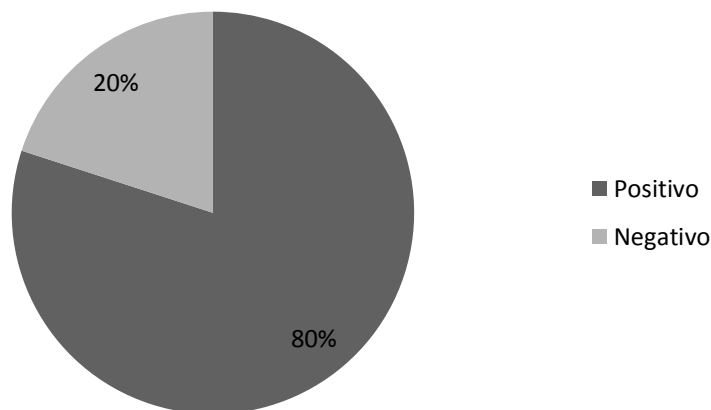


Figura 21- Frequência da produção de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase pelos isolados (30), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária

#### 4.4.7 Crescimento em meio com reduzida atividade de água

Dos 30 isolados selecionados 63% (19) foram capazes de crescer em meio com atividade de água até 0,957, enquanto que 3 foram capazes de crescer em meio com atividade de água até 0,897, e oito até e 0,844. Diante desta classificação, os isolados que apresentaram melhor desenvolvimento nos meios adicionados de sorbitol, foram os isolados 4 e 70.

#### 4.4.8 Produção de quitinases

Dos 30 isolados avaliados, 14 (47%) foram capazes de formar halos ao final de 15 dias em meio de cultura contendo quitina como única fonte de C (Figura 22).

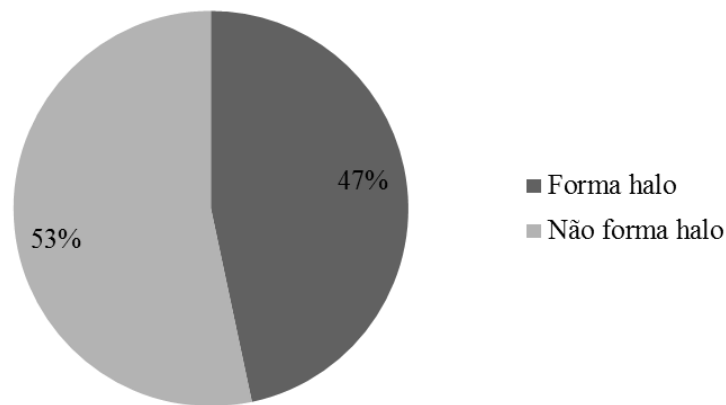


Figura 22- Frequência do crescimento dos isolados (30) em meio de cultura contendo quitina como única fonte de Carbono, obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária

A variação dos índices de solubilização obtida entre os isolados selecionados foi de 1,13 a 1,26, destacando-se os isolados 43 e 66-1 com índice de solubilização de 1,26 (Figura 23).

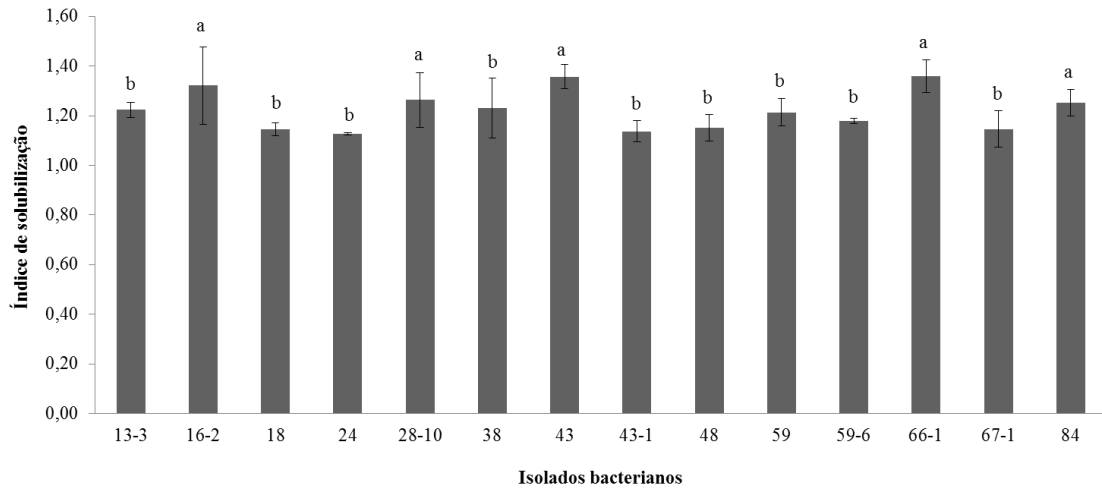


Figura 23- Capacidade de síntese de quitinase pelos isolados (30), obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. Avaliados através do índice de solubilização. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

#### 4.5 Promoção de crescimento de BPCPs em *Zea mays* L.

Para o experimento realizado sem estresse hídrico, a área foliar total (AFT) de vinte e seis tratamentos diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ), dentre esses o controle sem inoculação (CSI) (Tabela 4).

Os isolados 70 e 38 destacaram-se, pois aumentaram significativamente a AFT em 72% e 61% quando comparados com o CSI, demonstrando o potencial desses isolados em promover o crescimento do *Zea mays* L. sem estresse. O controle com a solução de Hoagland e Arnom (CH) aumentou a AFT em 130% quando comparado com o CSI (Figura 24A). Entre os consórcios (C) avaliados o destaque foi o C5, com um aumento de 46% da AFT quando comparado com o CSI (Figura 24B).

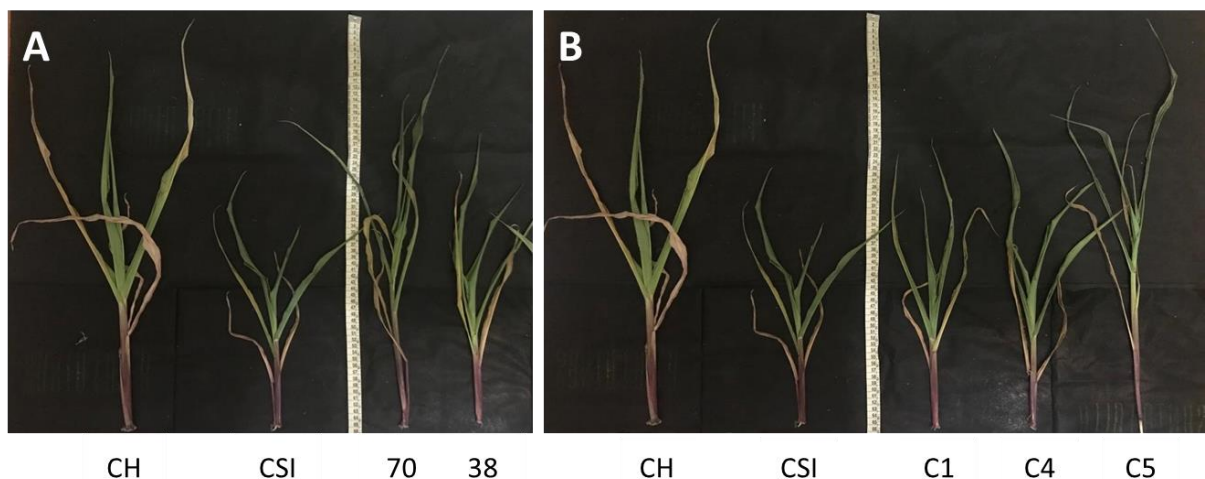


Figura 24- Parte área de *Zea mays* L. **A-** Plantas inoculadas com os isolados 70 e 38. **B-** Plantas inoculadas com os consórcios 1 (16-2; 18; 43-1; 59-6 e 85); 4 (16-2 e 18) e 5 (16-2; 59-6 e 85)



Os inoculantes comerciais (CI1 e CI2) responderam de forma negativa para AFT quando comparados com o CSI, sendo o mesmo comportamento observado para os isolados selecionados que não apresentaram bom desempenho, *in vitro*. Para os dois parâmetros avaliados, CC e BSPA, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

Quanto à BSR, vinte e quatro tratamentos diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4). Os isolados 28-7 e 28-10 destacaram-se pois aumentaram a BSR em 120% e 101% quando comparados com o CSI. O CH aumentou a BSR em 111% quando comparado com o CSI (Figura 25A). Entre os consórcios avaliados o destaque foi o C4, com um aumento de 65% da BSR quando comparado com o CSI (Figura 25B).

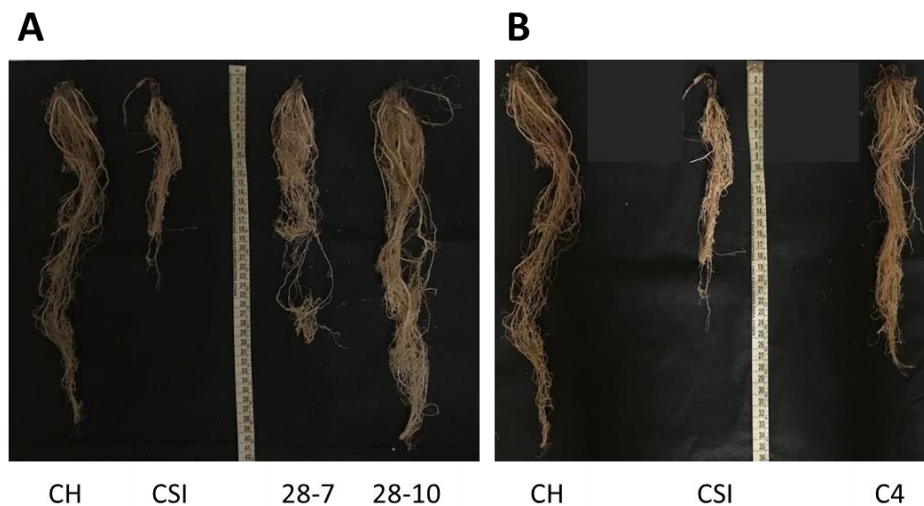


Figura 25- Biomassa seca da raiz de *Zea mays* L. A- Plantas inoculadas com os isolados 28-7 e 28-10. B- Planta inoculada com o consórcio 4 (16-2 e 4)

Os inoculantes comerciais (CI1 e CI2) também apresentaram respostas negativas para BSR quando comparados com o CSI, o mesmo comportamento foi observado para os isolados 5 e 32.

Os isolados 13-9; 59; 59-6; 64; 79-1; 85; CI1; CI2 e 32 apresentaram efeito deletério para todos os parâmetros de promoção de crescimento avaliados. Dois dos isolados selecionados (5; 79) por apresentar baixo desempenho *in vitro*, apresentaram efeito deletério para três parâmetros avaliados, enquanto o isolado 32 apresentou efeito deletério para todos os parâmetros avaliados.

Tabela 4- Promoção de crescimento de *Zea mays* L. sob 80 % de capacidade de pote, pelos isolados, obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. Valores médios obtidos de três repetições, para a avaliação da área foliar, comprimento do caule biomassa seca da parte aérea e da raiz. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Isolados	AFT (cm <sup>2</sup> )	CC (cm)	BSPA (g)	BSR (g)
4	1803,11 a	13,83	2,02	1,31 a
13-3	1701,91 a	12,00	1,66	1,50 a
13-9	658,98 b	6,33	1,31	0,53 b
16-2	1460,35 a	11,17	1,60	0,92 b
18	1466,89 a	12,00	1,31	1,02 a
24	1985,60 a	13,83	1,87	1,23 a
24-1	1386,40 a	10,83	1,55	1,05 a
28-7	1921,90 a	16,23	2,35	1,72 a
28-10	1957,38 a	12,67	2,30	1,56 a
38	2112,55 a	15,83	2,02	1,50 a
43	1521,64 a	11,50	1,60	1,09 a
43-1	1710,40 a	12,50	1,34	0,73 b
46-1	1804,65 a	13,33	1,61	0,82 b
48	1782,18 a	10,67	1,92	1,16 a
52	2077,20 a	12,50	2,06	1,14 a
54	1597,15 a	12,67	1,52	1,10 a
59	878,38 b	10,67	0,81	0,54 b
59-3	1396,10 a	10,83	1,47	1,19 a
59-6	1054,65 b	11,33	1,14	0,61 b
64	982,61 b	8,67	0,79	0,54 b
66-1	1510,05 a	12,33	1,49	0,80 b
66-2	1593,10 a	15,17	2,03	1,41 a
66-3	1753,09 a	13,67	1,76	1,35 a
67-1	1764,08 a	13,17	1,68	1,21 a
70	2267,45 a	13,50	1,85	1,13 a
76-1	1736,21 a	13,00	1,44	0,84 b
79-1	990,24 b	9,50	1,01	0,52 b
82	1442,10 a	12,33	1,41	0,90 b
84	1388,49 a	10,67	1,42	1,11 a
85	826,74 b	7,00	0,76	0,65 b
CH	3032,88 a	15,33	2,98	1,64 a
CSI	1316,13 a	11,67	1,46	0,78 b
CI1	963,00 b	7,67	1,05	0,73 b
CI2	772,72 b	8,33	0,68	0,50 b
5	1020,24 b	13,50	1,02	0,42 b
32	673,61 b	10,67	1,22	0,72 b
79	1180,05 b	11,00	1,51	1,16 a
C1	1337,88 a	12,67	1,75	1,05 a
C2	1584,98 a	10,67	1,10	1,10 a
C3	1559,65 a	12,00	1,49	1,21 a
C4	1533,47 a	10,33	1,54	1,28 a
C5	1920,45 a	16,67	1,63	0,92 b

AFT- Área foliar total; CC- Comprimento do caule; BSPA- Biomassa seca da parte aérea; BSR- Biomassa seca da raiz

Para o experimento realizado com 30% CP, a AFT não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Quanto ao CC vinte e dois tratamentos diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) (Tabela 5). O isolado 43 destacou-se pois aumentaram o CC em 57,98% comparados com o CSI. O CH aumentou o CC em 60,61% quando comparado com o CSI. Entre os consórcios avaliados o destaque foi o C1, com um aumento de 34,28% do CC quando comparado com o CSI. Os inoculantes comerciais testados (CI1 e CI2) aumentaram o CC em 31,65% e 42,18% quando comparados com o CSI. Dois dos isolados selecionados (32 e 79), por não apresentarem bom desempenho *in vitro*, apresentaram um aumento de 47,83% e 63,04% para a BSPA quando comparados com o CSI.

Apenas um tratamento 43 foi capaz de aumentar significativamente em 194,93% BSPA e 376,42% BSR quando comparados com o CSI ( $p < 0,05$ ), demonstrando o potencial do isolado 43 em promover o crescimento do *Zea mays* L. sob estresse hídrico. Todos os consórcios foram capazes de aumentar a BSPA, porém, não diferiram significativamente quando comparados com o CSI. O mesmo comportamento foi observado para os CI1; CI2 e os isolados que não apresentaram bom desempenho, *in vitro*, (Tabela 5).

Os isolados 18; 59-3 e 76-1 apresentaram efeito deletério para AFT e CC, enquanto que o isolado 13-3 apresentou efeito deletério para AFT; BSPA e BSR (Tabela 5).

Tabela 5- Promoção de crescimento de *Zea mays* L. sob 30% de capacidade de pote, pelos isolados, obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária. Valores médios obtidos de três repetições, para a avaliação da área foliar, comprimento do caule biomassa seca da parte aérea e da raiz. Letras diferentes diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Isolados	AFT (cm <sup>2</sup> )	CC (cm)	BSPA (g)	BSR (g)
4	337,15	6,00 b	0,50 c	0,62 c
13-3	235,03	6,50 b	0,45 c	0,39 c
13-9	492,13	7,67 a	0,79 c	0,60 c
16-2	492,73	8,17 a	0,79 c	0,54 c
18	286,39	6,00 b	0,49 c	0,73 c
24	492,08	9,83 a	0,97 c	0,77 c
24-1	389,96	5,67 b	0,51 c	0,54 c
28-7	430,85	8,33 a	0,64 c	0,88 c
28-10	578,67	7,17 b	0,88 c	0,85 c
38	557,98	7,33 b	0,66 c	0,70 c
43	628,59	10,00 a	1,36 b	1,95 a
43-1	413,55	8,17 a	0,53 c	0,43 c
46-1	450,00	8,50 a	0,84 c	0,93 c
48	362,19	6,67 b	0,71 c	0,78 c
52	409,92	8,17 a	0,82 c	0,70 c
54	270,05	7,00 b	0,56 c	0,66 c
59	373,85	8,67 a	0,72 c	0,91 c
59-3	287,87	5,67 b	0,76 c	0,79 c
59-6	541,08	7,83 a	0,77 c	0,66 c
64	479,66	9,33 a	0,75 c	0,72 c
66-1	409,03	6,33 b	0,57 c	0,66 c
66-2	490,80	6,83 b	0,70 c	0,74 c
66-3	440,56	8,67 a	0,97 c	0,80 c
67-1	581,00	7,67 a	0,90 c	0,93 c
70	427,64	7,00 b	0,64 c	0,48 c
76-1	260,20	6,00 b	0,69 c	0,69 c
79-1	549,45	9,50 a	0,67 c	0,70 c
82	542,79	7,00 b	1,06 c	0,69 c
84	457,75	8,67 a	1,02 c	0,56 c
85	418,40	6,83 b	0,62 c	0,66 c
CH	885,70	10,17 a	1,78 a	1,33 b
CSI	317,49	6,33 b	0,46 c	0,41 c
CII	364,43	8,33 a	0,53 c	0,63 c
CI2	524,05	9,00 a	0,74 c	0,74 c
5	444,55	6,67 b	0,63 c	0,62 c
32	276,45	8,17 a	0,68 c	0,49 c
79	494,78	7,67 a	0,75 c	0,95 c
C1	420,38	8,50 a	0,88 c	0,77 c
C2	553,25	5,17 b	0,82 c	0,99 c
C3	541,69	7,50 b	0,66 c	0,62 c
C4	584,09	6,83 b	0,77 c	0,75 c
C5	479,81	8,33 a	0,60 c	0,44 c

AFT- Área foliar total; CC- Comprimento do caule; BSPA- Biomassa seca da parte aérea; BSR- Biomassa seca da raiz

Em ambos os experimentos realizados, os isolados atuaram como promotores de crescimento do *Zea mays* L., mas nenhum isolado foi capaz de aumentar significativamente os quatro parâmetros concomitantemente. Contudo os isolado 28-7 e 28-10 aumentaram significativamente a BSR no experimento sob 80% CP e o isolado 43 aumentou significativamente três parâmetros avaliados (CC, BSPA, BSR) no experimento sob 30% CP, apresentaram potencial em promover o crescimento do *Z. mays* L.

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados apresentados demonstraram que alguns isolados obtidos do SR e SA de *Mimosa* promovem o crescimento do *Zea mays* L. sob condições de adequadas e de manejo hídrico e sob estresse hídrico. Estes dados confirmam a hipótese de que solo de lagoa temporária do semiárido tropical, possui potencial biotecnológico em promover o crescimento do *Z. mays* L. sob condições de estresse hídrico.

### **Unidades Formadoras de Colônia (UFC) e características fenotípicas: aspectos gerais**

O solo é considerado o principal reservatório da diversidade biológica, devido à maneira heterogênea e descontínua da sua estrutura, caracterizando sistemas biológicos dinâmicos (BERENDSEN; PIETERSE; BAKKER, 2012; KUMAR et al., 2015). De maneira geral, o solo é um ambiente oligotrófico, porém, apresenta a ocorrência de “*hot spots*”, por exemplo, a região rizosférica das plantas. É nessas “*hot spots*” que os micro-organismos se tornam mais abundantes e ativos (PHILIPPOT et al., 2013), devido à ocorrência de uma rica e diversificada fonte de exsudados (BAIS et al., 2006). Este comportamento foi observado em todos os pontos avaliados no presente estudo, onde a população de bactérias foram mais abundante no ambiente rizosférico (Figura 3).

As bactérias formadoras de endósporos, são resistentes a condições ambientais desfavoráveis, como calor, radiação, seca e falta de nutrientes (NICHOLSON et al., 2000). Essas condições são verificadas na lagoa temporária estudada, o que pode justificar a maior ocorrência da população bacteriana formadora de endósporo em quatro pontos do SA (Figura 4). Onde na ausência da planta hospedeira, os estresses ambientais podem reduzir significativamente a abundância bacteriana do solo (HUNGRIA; VARGAS, 2000; GORBUSHINA, 2007), corroborando os resultados obtidos no presente trabalho. Segundo Cattivelli et al. (2008), a evolução natural de organismos favoreceu a seleção de mecanismos de adaptação e sobrevivência a condições de estresses. Rao; Venkateswarlu, (1983) verificou

que a comunidade de bactérias formadoras de endósporos foi encontrada com maior frequência durante o verão.

Abedinzadeh; Etesami; Alikhani, (2019) eles concluem há maior resistência de bactérias Gram-positivo a estresses, o que corrobora os resultados encontrados no presente estudo. Podendo ser atribuída a estrutura de sua parede celular que consiste principalmente de peptidoglicano, formando uma barreira ao redor da membrana plasmática, o que pode conferir uma maior resistência, a altas temperaturas e longos períodos de seca (FRANCIS; HOLSTERS; VEREECKE, 2010), estresses estes que são característicos da lagoa temporária inserida no semiárido brasileiro.

### **Mecanismos de promoção de crescimento**

Todos os 98 isolados obtidos selecionados do SR e do SA da *M. bimucronata* apresentaram características de promoção de crescimento *in vitro*. Segundo Braun; Wang; Ruan, (2014), rizosfera e raízes abrigam organismos que podem melhorar o crescimento das plantas por diferentes mecanismos. Estudos mostram que bactérias solubilizadoras de fosfato insolúvel podem aumentar a biodisponibilidade do fósforo insolúvel para a planta hospedeira (RICHARDSON, 2001; NARULA et al., 2002). Os resultados obtidos pelo presente trabalho corroboram os encontrados por Youseif (2018) o qual verificou uma maior presença de isolados solubilizadores de fosfato no solo rizosférico. Hayat et al. (2010) relataram que as bactérias rizosféricas são mais versáteis na transformação, mobilização e solubilização de nutrientes quando comparadas com as bactérias do solo não rizosférico. Porém, o isolado bacteriano obtido que apresentou o maior índice de solubilização foi obtido do solo adjacente, podendo ter ocorrido devido ao acaso segundo o teste qui-quadrado (Figura 11).

O nitrogênio é o principal fator limitante para o crescimento e a produtividade das plantas. A utilização de bactérias fixadoras de  $N_2$  é uma alternativa sustentável para aumentar o crescimento e a produtividade das plantas (AHEMAD; KIBRET, 2014). Nas condições do presente trabalho, 43% dos isolados selecionados não exibiram a formação da película. É possível que mais isolados possam ser considerados diazotróficos, visto que poderiam fixar nitrogênio em condições não avaliadas, como, por exemplo, a limitação das fontes de carbono presentes nos meios de cultura, as variações na concentração do inóculo, bem como as condições da análise de redução do acetileno, que considerou apenas um único tempo de incubação com o gás, ou ainda, a condições ligadas à concentração de oxigênio na atmosfera do frasco de incubação (BALOTA et al., 1999). Shahi et al. (2011), verificaram uma grande

variação na redução de acetino pelas bactérias isoladas, contudo foi verificado um grande potencial para promoção de crescimento das plantas.

As BPCPs induzem vários mecanismos de resistência à seca em plantas, que envolve vários processos fisiológicos e alterações bioquímicas (BABALOLA et al., 2007). Modificações fitohormonais (KHALID; ARSHAD; ZAHIR, 2006), produção de osmólitos, exopolissacarídeos (VANDERLINDE et al., 2010) e biofilme reduzem os efeitos negativos de estresses, como o estresse hídrico (ZAHIR et al., 2008). Estudos mostram que as bactérias modificam a produção de fitohormônios, por exemplo, o aumento na produção AIA, além de diminuir a produção de etileno em condições de estresse hídrico, auxiliando no crescimento de plantas (GLICK et al., 2007; BELIMOV et al., 2009; EGAMBERDIEVA; KUCHAROVA, 2009; BRESSON et al., 2014; BARNAWAL et al., 2017).

A produção de AIA é uma característica importante pois é responsável pela regulação de vários processos de crescimento celular, como o desenvolvimento do sistema radicular, aumentando a aquisição de nutrientes e absorção de água (KAUSHAL; WANI, 2016; LAMBRECHT et al., 2000) aumentando a tolerância das plantas ao estresse hídrico (EGAMBERDIEVA; KUCHAROVA, 2009). Marulanda; Barea; Azcón, (2009) concluíram que plantas tratadas com *Pseudomonas putida*, podem sobreviver ao estresse hídrico devido à produção de AIA. Kavamura et al. (2013) isolaram bactérias associadas às cactáceas do semiárido brasileiro capazes de produzir AIA em elevadas concentrações, o que corrobora os resultados verificados no presente estudo, onde foram verificadas elevadas concentrações de produção de AIA por isolados obtidos do semiárido brasileiro.

Condições de estresse hídrico resultam em uma alta biossíntese de etileno reduzindo o crescimento das plantas. Contudo bactérias que possuem a enzima ACC deaminase clivam o precursor do etileno ACC da planta, diminuindo o nível de etileno e promovendo o crescimento de plantas (GLICK et al., 2007). Estudos verificaram que plantas de pimentas apresentaram uma maior tolerância ao estresse hídrico após a inoculação com *Bacillus licheniformis*, devido à produção de ACC deaminase (LIM; KIM, 2013). Ali et al., (2015) verificaram que cepas de *Pseudomonas fluorescens* obtidas de solo rizosférico e solo não rizosférico de zonas áridas e semiáridas, continha a enzima ACC deaminase e são tolerantes ao estresse hídrico. No presente estudo 80% dos isolados avaliados possuem a enzima ACC deaminase (Figura 21).

Alguns dos álcoois de açúcar (polióis) incluindo o sorbitol protegem as raízes das plantas e células da dessecação (GIRI et al., 2013). No caso de desidratação celular, os grupos

hidroxila do polióis substituem a água e estabelecem ligações de hidrogênio auxiliando na manutenção das atividades enzimáticas e proteção das estruturas das membranas (NOIRAUD; MAUROUSSET; LEMOINE, 2001). O valor de  $A_w$  que inibe qualquer atividade celular depende de cada organismo (CONNON et al., 2007). Segundo Grant (2004), os valores mínimos de  $A_w$  que podem ser observados crescimento de bactérias, são: 0,900  $A_w$  (para uma grande porcentagem de bactérias). Porém no presente trabalho foi observado um crescimento bacteriano em  $A_w$  inferiores. Kavamura et al. (2013) avaliando o crescimento de isolados em meio com reduzida disponibilidade de água, concluiu que os isolados podem ser considerados xerotolerantes.

Os exopolissacarídeos, componentes de biofilmes bacterianos produzidos por uma grande variedade de micro-organismos, são compostos hidratados com 97% de água em uma matriz de polímero (CONNON et al., 2007; NOCKER et al., 2012). Vários trabalhos relatam a importância do EPS para uma maior resistência ao estresse hídrico (ALAMI et al., 2000; VARDHARAJULA et al., 2011; AWAD et al., 2012; NASEEM; BANO, 2014). Apenas 4% dos isolados avaliados no presente trabalho não foram capazes de produzir exopolissacarídeos (Figura 15), o que indica uma grande presença de isolados produtores de EPS no solo rizosférico e no solo adjacente. Kavamura et al. (2013) trabalhando com bactérias do semiárido brasileiro, verificaram que 65% dos isolados foram capazes de produzir EPS.

Segundo Seminara et al. (2012) a produção de EPS é essencial para o espalhamento do biofilme. O que pode explicar a alta produção de EPS e alta formação de biofilme pelo isolado 66-1 (Apêndice H; I). Durante o crescimento vegetal, o biofilme pode auxiliar na colonização radicular (RAMEY et al., 2004) assim como, proteger as células da privação de nutrientes, fagocitose, antibióticos, alterações no pH (JEFFERSON, 2004) e também de condições limitantes de água (CHANG et al., 2007). Rolli et al. (2015) descobriram que bactérias produtoras de exopolissacarídeos, promovem o crescimento de plantas durante o estresse hídrico através da formação de um biofilme hidrofílico ao redor da raiz.

O aumento do desenvolvimento de plantas pode ocorrer através da expressão de uma ou mais características promotoras de crescimento de plantas. Desta forma, a avaliação das BPCPs na promoção do crescimento de plantas em ambientes controlados é importante (RANA et al., 2011). Porém, o fato das linhagens possuírem múltiplas características, *in vitro*, pode muitas vezes não conferir a promoção de crescimento, como observado para *Pseudomonas* spp. (KUMAR et al., 2012). Destacando a dificuldade de obter uma única “super bactéria” com todas as características desejadas.



### **Promoção de crescimento de BPCPs em *Zea mays* L.**

A seca é uma das principais condições ambientais adversas capazes de reduzir a produtividade, uma vez que a produção de biomassa pelas plantas é regulada pela disponibilidade de água (FITA et al., 2015). O que pode ser observado no presente trabalho, à baixa produção da biomassa seca da parte aérea e da raiz do experimento submetido a 30% da CP quando comparado com o experimento submetido a 80% da CP (Tabela 4 e 5).

A produção de fitohormônios e a fixação biológica de nitrogênio são uns dos principais mecanismos responsáveis pela promoção do crescimento de plantas. O AIA é considerado o fitohormônio mais importante para o desenvolvimento de plantas, o mesmo promove o aumento do desenvolvimento do sistema radicular das plantas (DUCA et al., 2014). O isolado 28-10, produtor de elevadas concentrações de AIA, aumentou significativamente a biomassa seca da raiz e a área foliar total. Estes aumentos também podem ser atribuídos pela alta atividade da nitrogenase (Figura 20). Ke et al. (2018) observaram que a inoculação de *Pseudomonas stutzeri* (diazotrófica) aumentou significativamente o peso seco da raiz e da parte aérea, corroborando os resultados encontrados no presente estudo (Tabela 4). Marulanda et al. (2009) atribuiu a eficácia de *Bacillus megaterium* (produtora de AIA) na promoção do crescimento de plantas. Araujo e Guerreiro (2010) observaram aumentos na área foliar, comprimento do colmo e biomassa seca do milho após a inoculação com isolados.

As bactérias possuem diferentes mecanismos que podem melhorar a tolerância da planta ao estresse hídrico. A inoculação de bactérias em plantas de milho aumentou significativamente o crescimento do milho sob estresse hídrico (KAUSHAL; WANI, 2016). Kavamura et al. (2013) verificaram que isolados obtidos do semiárido brasileiro foram capazes de aumentar significativamente a área foliar, no comprimento do caule e na biomassa seca da parte aérea sob estresse hídrico.

No presente estudo foi verificado que o isolado 43 aumentou significativamente o comprimento do caule, biomassa seca da parte aérea e biomassa seca da raiz (Tabela 5), podendo este efeito ser atribuído à produção da enzima ACC deaminase (Tabela 1), como observado por (ETESAMI; ALIKHANI; MIRSEYED HOSSEINI, 2015; NAVEED et al., 2014). O aumento do sistema radicular causado pela redução do etileno permite que a planta absorva mais água e nutrientes do solo, conseqüentemente, a planta se desenvolve mais em condições de estresse (GLICK, 2015; LIM; KIM, 2013). Zahir et al. (2008) verificou que a

inoculação de *Pseudomonas* spp. que possuía a enzima ACC deaminase, induziu raízes mais longas, o que resultou em um aumento na captação de água sob condições de estresse hídrico, resultados também observados por Vacheron et al. (2013); Bharti et al. (2014); Etesami; Alikhani; Mirseyed Hosseinei (2015). Embora se saiba que o aumento do crescimento, produção e absorção de nutrientes pelas plantas podem ocorrer através da expressão de uma ou mais caracteres promotores de crescimento de plantas (KAVAMURA et al., 2013).

## 6 CONCLUSÃO

Este trabalho indica o potencial de isolados bacterianos na promoção do crescimento do *Zea mays* L., sob manejo hídrico adequado (38, 70, 28-7 e 28-10) e sob estresse hídrico (43). Além disso, é o primeiro relato que descreve bactérias associadas a lagoas temporárias do semiárido tropical com capacidade de promover crescimento de plantas.

## 7 REFERÊNCIAS

- ABBASI, M. K.; SHARIF, S.; KAZMI, M.; SULTAN, T.; ASLAM, M. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. **Plant Biosystems**, Abingdon, v. 145, p. 159–168, 2011.
- ABEDINZADEH, M.; ETESAMI, H.; ALIKHANI, H. A. Characterization of rhizosphere and endophytic bacteria from roots of maize (*Zea mays* L.) plant irrigated with wastewater with biotechnological potential in agriculture. **Biotechnology Reports**, Amsterdam, v. 21, p. 03-05, 2019.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University - Science**, Hoboken, v. 26, n. 1, p. 1–20, 1 jan. 2014.
- ALAMI, Y.; ACHOUAK, W.; MAROL, C.; HEULIN, T. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharides-producing *Rhizobium* sp. strain isolated from sunflower roots. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, p. 3393–3398, 2000.
- ALI, S.; CHAUDHARY, A.; RIZWAN, M.; ANWAR, H. T.; ADREES, M.; FARID, M.; IRSHAD, M. K.; HAYAT, T.; ANJUM, S. A. Alleviation of chromium toxicity by glycinebetaine is related to elevated antioxidant enzymes and suppressed chromium uptake and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Environmental Science and Pollution Research**, Philadelphia, v. 22, n. 14, p. 10669–10678, 2015.
- ALMAGHRABI, O. A.; MASSOUD, S. I.; ABDELMONEIM, T. S.; SAUDI, J. Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under greenhouse conditions. **International Journal of Biological Sciences**, Lake Haven, v. 20, n. 1, p. 57-61, 2013.

- ALVES, J. J. A.; ARAÚJO, M. A.; NASCIMENTO, S. S. Degradação da caatinga: uma investigação ecogeográfica. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 3, p. 126-135, 2009.
- ARANGUREN-RIANO, N.; GUISANDE, C.; OSPINA, R. Factors controlling crustacean zooplankton species richness in Neotropical lakes. **Journal of Plankton Research**, Oxford, v. 33, n. 8, p. 1295-1303, 2011.
- ARAÚJO FILHO, J. A. **Manejo pastoril sustentável da caatinga**. Recife, PE: Projeto Dom Helder Câmara, 2013. 200p.
- ARAUJO, F. F. D.; GUERREIRO, R.T. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* promotores de crescimento de milho cultivado em solo autoclavado e natural. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, p.837–844, 2010.
- ARAÚJO, K. S.; CARVALHO, F.; MOREIRA, F. M. S. *Bukholderia* strains promote *Mimosa* spp. growth but not *Macropitilium atropurpureum*. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 48, p. 41/1-48, 2017.
- ARAÚJO, L. V. C.; SILVA, J. A. Unidade experimental Fazenda Belo Horizonte - Mossoró/RN. In: GARIGLIO, M. A.; SAMPAIO, E. V. S. B; CESTARO, L. A.; KAGEYAMA, P. Y. **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da caatinga**. 2. ed. Brasília, DF: Serviço Florestal Brasileiro, p. 205-213, 2010.
- AWAD, N.M.; TURKY, A.S.; ABDELHAMID, M. T.; ATTIA, M. Ameliorate of environmental salt stress on the growth of *Zea mays* L. plants by exopolysaccharides producing bacteria. **Journal of Applied Sciences**, Dubai, v.8, p.2033– 2044, 2012.
- BABALOLA, O. O.; SANI, A. I.; ODHIAMBO, G. D.; TORTO, B. Plant growth-promoting rhizobacteria do not pose any deleterious effect on cowpea and detectable amounts of ethylene are produced. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 23, n. 6, p. 747–752, 29 maio 2007.
- BAHADUR, I.; MAURYA, B. R.; MEENA, V. S.; SAHA, M.; KUMAR, A.; AERON, A. Mineral Release Dynamics of Tricalcium Phosphate and Waste Muscovite by Mineral-Solubilizing Rhizobacteria Isolated from Indo-Gangetic Plain of India. **Geomicrobiology Journal**, Philadelphia, v. 6, p. 1–13, 2016.
- 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**, Palo Alto, v. 57, n. 1, p. 233–266, 2006.
- BALOTA, E. L.; LOPES, E. S.; HUNGRIA, M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 7, p. 1265–1276, jul. 1999.
- BARBOSA, J. E. L.; MEDEIROS, E. S. F.; BRASIL, J.; CORDEIRO, R. S.; CRISPIM, M. C. B.; SILVA, G. H. G. Aquatic systems in semi-arid Brazil: limnology and management. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Rio Claro, v. 24, n. 1, p. 103-118, 2012.
- BARNAWAL, D.; BHARTI, N.; PANDEY, S. S.; PANDEY, U.; CHANOTIYA, C. S.;

- KALRA, U. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance wheat salt and drought stress tolerance by altering endogenous phytohormone levels and *TaCTR1* / *TaDREB2* expression. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 161, n. 4, p. 502–514, dez. 2017.
- BELIMOV, A. A.; DODD, I. C.; HONTZEAS, N.; TEOBLADO, J. C.; SAFRONOVA, V. L.; DAVIES, W. L. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling. **New Phytologist**, Hoboken, v. 181, n. 2, p. 413–423, jan. 2009.
- BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. J.; BAKKER, P. A. H. M. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, London, v. 17, n. 8, p. 478–486, ago. 2012.
- BERRAQUERO, F. R.; CORMENZANA, A. R.; BERRAQUERO, F. R.; CORMENZANA, A. R. **Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo**, 1 jan. 1976.
- BETTIOL, W. Isolamento seletivo de *Bacillus*. In: MELO, I.S.; SANHUEZA, R.M.V. (Ed.). **Métodos de seleção de microrganismos antagônicos a fitopatógenos**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1995. p. 35-36.
- BHARTI, N.; BARNAWAL, D.; AWASTHI, A.; YADAV, A.; KALRA, A. Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity induced negative effects on growth, oil content and physiological status in *Mentha arvensis*. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 36, n. 1, p. 45–60, 17 jan. 2014.
- BHARTI, N.; BARNAWAL, D. Amelioration of Salinity Stress by PGPR: ACC Deaminase and ROS Scavenging Enzymes Activity. **PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture**, p. 85–106, 1 jan. 2019.
- BODDEY, R.M.; BODDEY, L.H.; URQUIAGA, S. **A técnica de redução de acetileno na medição da fixação biológica de nitrogênio**. Itaguaí: Editora Universidade Rural, 1990. 37p. (EMBRAPA-CNPBS. Documentos, 6).
- BRANDA, S. S.; VIK, S.; FRIEDMAN, G.; KOLTER, R. Biofilms: the matrix revisited. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 20–26, jan. 2005.
- BRAUN, D. M.; WANG, L.; RUAN, Y.-L. Understanding and manipulating sucrose phloem loading, unloading, metabolism, and signalling to enhance crop yield and food security. **Journal of Experimental Botany**, Orford, v. 65, n. 7, p. 1713–1735, 2014.
- BRESSON, J. VASSEUR, F.; DAUZAT, M.; LABADIE, M.; VAROQUAUX, F.; TOURAINÉ, B.; VILE, D. Interact to Survive: *Phyllobacterium brassicacearum* Improves *Arabidopsis* Tolerance to Severe Water Deficit and Growth Recovery. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 9, p. 107- 607, 2014.
- BUCK, J. D. Nonstaining (KOH) method for determination of gram reactions of marine bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 44, n. 4, p. 992–3, 1982.

CARDOSO, M. M. L.; SOUZA, J. E. R. T.; CRISPIM, M. C.; SIQUEIRA, R. Diversidade de peixes de um rio intermitente do semiárido paraibano, Brasil. **Biotemas**, Santa Catarina, v. 25, n. 3, p. 161-171, 2012.

CARVALHO, P. E. R. **Maricá - *Mimosa bimucronata***. Colombo: EMBRAPA, 2004. 10 p. (Circular Técnica, 94).

CASAS, J. J.; TOJA, J.; PEÑALVER, P.; JUAN, M.; LEÓN, D.; RODRÍGUEZ-FUENTES, F.; GALLEGO, I.; FENOY, E.; PÉREZ-MARTÍNEZ, C.; SÁNCHEZ, P.; BONACHELA, S.; ELORRIETA, M. A. Farm Ponds as Potential Complementary Habitats to Natural Wetlands in a Mediterranean Region. **Wetlands**, Dordrecht, v. 32, n. 1, p. 161–174, 2012.

CASTRO, A. S.; CAVALCANTE, A. **Flores da caatinga**. Campina Grande: Instituto Nacional do Semiárido, 2011. 116p.

CATTIVELLI, L.; RIZZA, F.; BADECK, F. W.; MAZZUCOTELLI, E.; MASTRANGELO, A. M.; FRANCA, E.; MARE, C.; TONDELLI, A.; STANCA, M. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 105, n. 1–2, p. 1–14, 2008.

CAVERO, J.; FARRE, I.; DEBAEKE, P.; FACI, J. M. Simulation of Maize Yield under Water Stress with the EPICphase and CROPWAT Models. **Agronomy Journal**, Madison, v. 92, n. 4, p. 679, 2000.

CHANG, W.-S.; MORTEL, M. V.; NIELSEN, L.; GUZMAN, G. N.; XIAOHONG, L.; HALVERSON, L. J. Alginate production by *Pseudomonas putida* creates a hydrated microenvironment and contributes to biofilm architecture and stress tolerance under water-limiting conditions. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 189, n. 22, p. 8290–9, 2007.

CHERIF, H.; MARASCO, R.; ROLLI, E.; FERJANI, R.; FUSI, M.; SOUSSI, A.; MAPELLI, F.; BLILOU, L.; BORIN, S.; BOUDABOUS, A.; CHERIF, A.; DAFFONCHIO, D.; OUZARI, H. Oasis desert farming selects environment-specific date palm root endophytic communities and cultivable bacteria that promote resistance to drought. **Environmental Microbiology**, Hoboken, v. 7, p. 668–678, 2015.

CHESTER, E. T.; ROBSON, B. J. Anthropogenic refuges for freshwater biodiversity: Their ecological characteristics and management. **Biological Conservation**, Oxford, v. 166, p. 64–75, 2013.

CHIEN, S. H.; PROCHNOW, L. I.; TU, S.; SNYDER, C. S. Agronomic and environmental aspects of phosphate fertilizers varying in source and solubility: an update review. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 89, p. 229-255, 2011.

CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. Nitrogenase (a Key Enzyme): Structure and Function. In: [s.l.] Springer, Cham, 2017. p. 293–307.

COLEMAN-DERR, D.; TRINGE, S. G. Building the crops of tomorrow: advantages of symbiont-based approaches to improving abiotic stress tolerance. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, v. 5, p. 283, 2014.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2016**. Disponível em Acesso em 31 out. 2017.

CONNON, S. A.; LESTER, E. D.; SHAFAT, H. S.; OBENHUBER, D. C.; PONCE, A. Bacterial diversity in hyperarid Atacama Desert soils. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, Washington, v. 112, n. G4, p. n/a-n/a, 2007.

CPRM - Companhia de Pesquisa de Recursos Mineral. **Geologia e recursos minerais da Folha Parnamirim, estado de Pernambuco: texto explicativo.**/ Rodrigo Fabiano da Cruz, Org.- Recife: CPRM-RE, 2005.

DISSANAYAKA, D. M. S. B.; PLAXTON, W. C.; LAMBERS, H.; SIEBERS, M.; MARAMBE, B.; WASAKI, J. Molecular mechanisms underpinning phosphorus-use efficiency in rice. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 41, n. 7, p. 1483–1496, 2018.

DOBEREINER, J.; BALDANI, J.I. BALDANI, V.L.D. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília: EMBRAPA, SPI, 1995. 60p.

DUCA, D.; LORV, J.; PATTEN, C. L.; ROSE, D.; GLICK, B. R. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 106, n. 1, p. 85–125, 21 jul. 2014.

DUNGAIT, J. A.; CARDENAS, L. M.; BLACKWELL, M. S. A.; WU, L.; WITHERS, P. J. A.; CHADWICK, D. R.; BOL, R.; MURRAY, P. J.; MACDONALD, A. J.; WHITMORE, A. P.; GOULDING, K. W. T. Advances in the understanding of nutrient dynamics and management in UK agriculture. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 434, p. 39-50, 2012.

EGAMBERDIEVA, D.; KUCHAROVA, Z. Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 45, n. 6, p. 563–571, 2009.

EL-SAYED W. S.; AKHKHA A.; EL-NAGGAR M. Y. In vitro antagonistic activity, plant growth promoting traits and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with wild plants grown in arid soil. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, v. 5, p. 651, 2014.

ELSHAFEI, Y.; COLETTI, J. Z.; SIVAPALAN, M.; HIPSEY, M. R. A model of the socio-hydrologic dynamics in a semiarid catchment: Isolating feedbacks in the coupled human-hydrology system. **Water Resources Research**, Washington, v. 51, n. 8, p. 6442–6471, 2015.

ETESAMI, H.; ALIKHANI, H. A.; MIRSEYED HOSSEINI, H. Indole-3-Acetic Acid and 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase: Bacterial Traits Required in Rhizosphere, Rhizoplane and/or Endophytic Competence by Beneficial Bacteria. In: [s.l.] **Springer plus**, Cham, Switzerland, v. 2, p. 183–258, 2015.

FERREIRA, A. S.; PIRES, R. R.; RABELO, P. G.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 72, p. 103–108, 2013.

- FITA, A. RODRÍGUEZ-BURRUEZO, A.; BOSCAIU, M.; PROHENS, J.; VICENTE, O. Breeding and Domesticating Crops Adapted to Drought and Salinity: A New Paradigm for Increasing Food Production. **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 6, p. 978, 2015.
- FRANCIS, I.; HOLSTERS, M.; VEREECKE, D. The Gram-positive side of plant-microbe interactions. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 12, p. 1-12, 2010.
- GIRI, J.; DANSANA, P. K.; KOTHARI, K. S.; SHARMA, G.; VIJ, S.; TYAGI, A. K. SAPs as novel regulators of abiotic stress response in plants. **BioEssays**, Hoboken, v. 35, n. 7, p. 639–648, 2013.
- GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, Jena, v. 169, n. 1, p. 30–39, 2015.
- GLICK, B. R.; TODOROVIC, B.; CZARNY, J.; ZHENYU, C.; DUAN, J.; McCONKEY, B. Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 26, n. 5–6, p. 227–242, 2007.
- GORBUSHINA, A. A. Life on the rocks. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 9, n. 7, p. 1613-1631, 2007.
- GOWTHAM, H. G. DURAIIVADIVEL, P.; HARIPRASAD, P.; NIRANJANA, S. R. A novel split-pot bioassay to screen indole acetic acid producing rhizobacteria for the improvement of plant growth in tomato [*Solanum lycopersicum* L.]. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 224, p. 351–357, 2017.
- GRANT, W. D. Life at low water activity. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, Geograd, v. 359, n. 1448, p. 12-67, 2004.
- GUIMARÃES, D. P.; COSTA, F.; RODRIGUES, M.; MAUGERI, F. Optimization of dextran syntesis and acidic hydrolysis by surface response analysis. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 129–139, 1999.
- HAMMER, D. A. T.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. **Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis** *Palaeontologia Electronica*. v. 4, issue 1, p. 132-150, 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 Amazonica**, Manaus, v. 34, n. 3, p. 343–357, set. 2004.
- HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; ELSAS, J. D. VAN. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 16, n. 10, p. 463–471, 2008.
- HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, New York, v. 60, n. 4, p. 579–598, 2010.

HOAGLAND, D.R.; ARNON DI. 1950. The waterculture method for growing plants without soil. Berkeley, CA: Agric. Exp. Stn., Univ. of California. (Circ. 347)

HSU, S.C.; LOCKWOOD, J.L. Powderd chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.29, n.3, p.422-426, 1975.

HUNGRIA, M. & ARAÚJO, R.S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA. 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**, Dordrecht, v. 331, n. 1–2, p. 413–425, 2010.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2–3, p. 151–164, 2000.

HUSSAIN M. I.; ASGHAR H. N.; AKHTAR M. J.; ARSHAD M. Impact of phosphate solubilizing bacteria on growth and yield of maize. **Plant Soil and Environment**, Prague, v. 32, p. 71–78, 2013.

JEFFERSON, K. What drives bacteria to produce a biofilm? **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 236, n. 2, p. 163–173, 2004.

KAUSHAL, M.; WANI, S. P. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. **Annals of Microbiology**, New York, v. 66, n. 1, p. 35–42, 2016.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. L.; PARMA, M. M.; ÁVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, T. D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, Jena, v. 168, n. 4, p. 183–191, 2013.

KE, X.; FENG, S.; WANG, J.; LU, W.; ZHANG, W.; CHEN, M.; LIN, M.. Effect of inoculation with nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas stutzeri* A1501 on maize plant growth and the microbiome indigenous to the rhizosphere. **Systematic and Applied Microbiology**, Jena, 2018.

KHALID A; ARSHAD M; ZAHIR Z.A. **Phytohormones: Microbial Production and Applications | Biological Approaches to Sustainable Soil Systems | Taylor & Francis Group**. p.14, 2006.

KILL, L. H. P.; TERAÓ, D.; ALVAREZ, I. A. **Plantas ornamentais da caatinga**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 139p.

KING, E. O.; WARD, M. K.; RANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Milwaukee, v. 44, p. 301-307, 1954.



KUMAR, A.; KUMAR, A.; DEVI, S.; PATIL, S.; PAYAL, C.; NEGI, S. Isolation, screening and characterization of bacteria from rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: an *in vitro* study **Recent Research in Science and Technology**, Chicago, v. 4, n. 1, p. 1-5, 2012.

KUMAR, A.; VANDANA, R.S.; SINGH, M.; PANDEY, K.D. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). A promising approach for disease management. In: Singh, J.S., Singh, D.P. (Eds.), *Microbes and environmental management*. **Studium Press**, New Delhi, p. 195-209, 2015.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T.; FLÔRES, M. F. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético *in vitro* por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1459–1465, 2007.

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; VANDE, B. U.; VANDERLEYDEN, J. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 8, n. 7, p. 298–300, 2000.

LAVAKUSH.; YADAV, J.; VERMA, J. P.; JAISWAL, D. K.; KUMA, A. Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*). **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 62, p. 123–128, 2014.

LIM, J.-H.; KIM, S.-D. Induction of Drought Stress Resistance by Multi-Functional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in Pepper. **The Plant Pathology Journal**, Hoboken, v. 29, n. 2, p. 201–8, 2013.

LIU, J.; CADE-MENUN, B.; YANG, J.; LIANG, X. Molecular Speciation of Phosphorus Present in Readily Dispersible Colloids from Agricultural Soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 78, n. 1, p. 47, 2014.

MACEDO, M. J. H.; GUEDES, R. V. S.; SOUSA, F. A. S.; DANTAS, F. R. C. Análise do índice padronizado de precipitação para o estado da Paraíba, Brasil. **Ambi-Água**, Taubaté, v. 5, p. 204–214, 2010.

MAHDI DAR, Z.; MASSOD, A.; MUGJAL, A. H.; ASIF, M.; MALIK, M. A. Review on Drought Tolerance in Plants Induced by Plant Growth Promoting Rhizobacteria. **International Journal of Current Microbiology Applied Sciences**, Toronto, v. 7, n. 5, p. 15–27, 2018.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. 2.ed. Fortaleza: Printcola Gráfica e Editora, 2012. 413p.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia: o impacto na sociedade**. Biblioteca Max Feffer, 2011.

MALTCHIK, L. Biodiversidade e estabilidade em lagos do semi-árido. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.25, p.64-67, 1999.

- MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; NOGUEIRA, M. A. E.; HUNGRIA, M. Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. **AMB Express**, London, v. 3, p. 21, 2013.
- MARTÍNEZ-LÓPEZ, J.; CARREÑO, M. F.; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, L.; ESTEVE, M. A. Wetland and landscape indices for assessing the condition of semiarid Mediterranean saline wetlands under agricultural hydrological pressures. **Ecological Indicators**, Amsterdam, v. 36, p. 400–408, 2014.
- MARULANDA, A.; BAREA, J.-M.; AZCÓN, R. Stimulation of Plant Growth and Drought Tolerance by Native Microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from Dry Environments: Mechanisms Related to Bacterial Effectiveness. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 28, n. 2, p. 115–124, 24 jun. 2009.
- McNEIL, S. D.; NUCCIO, M. L.; HANSON, A. D. Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. **Plant Physiology**, Washington, v. 120, p. 945-949, 1999.
- MEHTA, P.; WALIA, A.; KULSHRESTHA, S.; CHAUHAN, A.; SHIRKOT, C. K. J. Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing *Bacillus circulans* CB7 for enhancement of tomato growth under net house conditions. **Journal of Basic Microbiology**, Hoboken, v. 55, p. 33-44, 2015.
- MONIER, J.-M.; LINDOW, S. E. Differential survival of solitary and aggregated bacterial cells promotes aggregate formation on leaf surfaces. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 100, n. 26, p. 15977–82, 2003.
- MONTENEGRO, S.; RAGAB, R. Impact of possible climate and land use changes in the semi arid regions: A case study from North Eastern Brazil. **Journal of Hydrology**, Netherlands, v. 434, p. 55–68, 2012.
- MÜLLER, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Ethylene Response Factors: A Key Regulatory Hub in Hormone and Stress Signaling. **Plant Physiology**, Rockville, v. 169, n. 1, p. 32–41, 1 set. 2015.
- NADEEM, S. M.; AHMAD, M.; ZAHIR, Z. A.; JAVAID, A.; ASHRAF, M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 429–448, 2014.
- NARULA, N.; KUKREJA, K.; KUMAR, V.; LAKSHMINARAYANA, K. Phosphate solubilization by soil isolates of *Azotobacter chroococcum* and their survival at different temperatures. **Journal of Agriculture in the Tropics and Subtropics**, Madison, v. 103, n. 1, p. 81 - 87, 2002.
- NASEEM, H.; BANO, A. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. **Journal of Plant-Microbe Interactions**,

Oxford, v.9, n.1, p. 689–701, 2014.

NAVEED, M.; MITTER, B.; REICHENAUER, T. G.; WIECZOREK, Z.; SESSITSCH, A. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by Burkholderia phytofirmans PsJN and Enterobacter sp. FD17. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 97, p. 30–39, 1 jan. 2014.

NICHOLSON, W. L.; MUNAKATA, N.; HORNECK, L.; MELOSH, H. J.; SETLOW, P. Resistance of Bacillus endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. **Microbiology and molecular biology reviews : MMBR**, Washington, v. 64, n. 3, p. 548–72, set. 2000.

NOCKER, A. FERNÁNDEZ, P. S.; MONTIJN, R.; SCHUREN, F. Effect of air drying on bacterial viability: A multiparameter viability assessment. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 90, n. 2, p. 86–95, 2012.

NOIRAUD, N.; MAUROUSSET, L.; LEMOINE, R. Transport of polyols in higher plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy-Les-Moulineaux, v. 39, n. 9, p. 717–728, 2001.

NOVO, L. A. B.; CASTRO, P. M.; ALVARENGA, P.; SILVA, E. F. Plant Growth–Promoting Rhizobacteria-Assisted Phytoremediation of Mine Soils. **Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation**, Oxford, p. 281–295, 2018.

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**, Hoboken, v. 28, n. 3, p. 449–61, 1998.

PATHAK, D. V.; KUMAR, M.; RANI, K. Biofertilizer Application in Horticultural Crops. In: [s.l.] **Springerplus**, Singapore, 2017. p. 215–227.

PATREZE, C. M.; CORDEIRO, L. Nitrogen-fixing and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimoseae. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 196, n. 1-2, p. 275-285, 2004.

PAULO, E. M. **Encapsulamento de Lactobacillus acidophilus por atomização em spray drying, utilizando exopolissacarídeos (EPS) produzidos por bactérias lácticas**. 2010. 222 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia)– Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.

PENROSE, D. M.; GLICK, B. R. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 118, p. 10–15, 2003.

PÉREZ-BILBAO, A.; BENETTI, C. J.; GARRIDO, J. Biodiversity and Conservation of Temporary Ponds — Assessment of the Conservation Status of " Veiga de Ponteliñares ", NW Spain ( Natura 2000 Network ), Using Freshwater Invertebrates. 2000.

PHILIPPOT, L.; RAAIJIMAKERS, J. M.; LAMANCAU, P.; PUTTEN, W. H. V. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 11, n. 11, p. 789–799, 2013.

- QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agronômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 209–218, 2014.
- QUEIROZ, L. P. Flowering plants of the Brazilian Semi-Arid. In: QUEIROZ, L. P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A. M. (Ed.). **Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity**. Ministério de Ciência e Tecnologia, Brasília. p. 45-50, 2006.
- RAMEY, B. E.; KOUTSOUDIS, H.; VON BODMAN, S. B.; FUFUA, C. Biofilm formation in plant–microbe associations. **Current Opinion in Microbiology**, London, v. 7, n. 6, p. 602–609, 2004.
- RANA, A.; SAHARAN, B.; JOSHI, M.; PRASANNA, R.; KUMAR, K.; NAIN, L. Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat. **Annals of Microbiology**, New York, v. 61, n. 4, p. 893–900, 2011.
- RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J. P.; GARCIA-CASAL, M. N. Global maize production, utilization, and consumption. **Annals of the New York Academy of Sciences**, Hoboken, v. 1312, n. 1, p. 105–112, 2014.
- RAO, A. V.; VENKATESWARLU, B. Microbial ecology of the soils of Indian desert. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Orford, v. 10, n. 4, p. 361–369, 1983.
- REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J.; FIQUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. Eficiência da *Azospirillum* brasilense Combinada com Doses de Nitrogênio no Desenvolvimento de Plantas de Milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p. 214–226, 2013.
- RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Functional Plant Biology**, Wellington, v. 28, n. 9, p. 897, 2001.
- ROCHA, G. O.; ANDRADE, J. B. D.; GUARIEIRO, A. L. N.; GUARIEIRO, L. L. N.; RAMOS, L. O. Chemistry without borders: the energy challenges. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 10, p. 1540-1551, 2013.
- ROLLI, E.; MARASCO, R.; VIGANI, L.; ETTOUMI, B.; MAPELLI, F.; DEANGELIZ, M. L.; GANDOLFI, C.; CASATI, E.; PREVITALI, F.; GERBINO, R.; PIEROTTI, C. F.; BORIN, S.; SORLINI, C.; ZOCCHI, L.; DAFFONCHIO, D. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. **Environmental Microbiology**, Hoboken, v. 17, n. 2, p. 316–331, fev. 2015.
- SAKANÉ, N.; BECKER, M.; LANGENSIEPEN, M.; CAN WIJK, M. T. Typology of Smallholder Production Systems in Small East-African Wetlands. **Wetlands**, Dordrecht, v. 33, n. 1, p. 101–116, 2013.
- SANTOS, G. D. V.; SANTOS, C. E. R. S.; FREITAS, A. D. S.; STAMFORD, N. P.; SILVA, A. F.; LYRA, M. C. C. P.; SANTOS, L. R. C.; FERREIRA, J. S. Symbiotic efficiency of native rhizobia in legume tree *Leucaena leucocephala* derived from several soil classes of

Brazilian Northeast region. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 12, n. 03, p. 1835–2707, 2018.

SANTOS, E. M.; ALMEIDA, G. V. L.; OLIVEIRA, L. L. D. S. S.; MENESES, E. R. A.; GUEDES, M. V.; SACRAMENTO, A. C.; BEZERRA, G. S. C. L.; BRITO, J. V. A.; SANTOS, J. C. O Parque Estadual Mata da Pimenteira - Primeira Unidade de Conservação Estadual na Caatinga de Pernambuco. In: SANTOS, E. M.; MELO JÚNIOR, M.; CAVALCANTI, J. S. S.; ALMEIDA, G. V. L. (orgs.). **Parque estadual mata da pimenteira: riqueza natural e conservação da caatinga**. Recife: Editora da UFRPE, 2013. 268p.

SCHMIDT, R.; KÖBERL, M.; MOSTAFA, A.; RAMADAN, E. M.; MONSCHEIN, M.; JENSEN, K. B.; BAUER, R.; BERG, G. Effects of bacterial inoculants on the indigenous microbiome and secondary metabolites of chamomile plants. **Frontiers Microbiology**, Lausanne, v. 5, p. 64, 2014.

SCHWARTZ, S. S.; JENKINS, D. G. Temporary aquatic habitats: constraints and opportunities. **Aquatic Ecology**, Dordrecht, v. 34, p. 3-8, 2000.

SEMINARA, A.; ANGELINI, T.E.; WILKING, J.N.; VLAMAKIS, H ; EBRAHIM, S.; KOLTER, R.; BRENNER, M.P. Osmotic spreading of *Bacillus subtilis* biofilms driven by an extracellular matrix. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.109, p.1116-1121, 2012.

SENEVIRATNE, G.; WEERASEKARA, M. L. M. A. W.; SENEVIRATNE, K. A. C. N.; ZAVAHIR, J. S.; KECSKÉS, M. L.; KENNEDY, R. Importance of Biofilm Formation in Plant Growth Promoting Rhizobacterial Action. In: [s.l.] **Springer**, Berlin, Heidelberg, 2010. p. 81–95.

SERGEEVA, E.; LIAIMER, A.; BERGMAN, B. Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria. **Planta**, Berlin, v. 215, p. 229–238, 2002.

SHAHI, S.K.; RAI, A.K.; TYAGI, M.B.; SINHA, R.P.; KUMAR, A. Rhizosphere of riceplants harbor bacteria with multiple plant growth promoting features. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, p. 8296-8305, 2011.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, Switzerland, v. 2, n. 1, p. 587, 2013.

SILVA, V. S. G.; SILVA SANTOS, C. E. R.; FREITAS, A. D. S.; STAMFORD, N. P.; SILVA, A. F.; LYRA, M. C. C. P.; SANTOS, L. R. C.; FERREIRA, J. S. Symbiotic efficiency of native rhizobia in legume tree *Leucaena leucocephala* derived from several soil classes of Brazilian Northeast region. **Australian Journal of crop science**, Lismore, v. 12, p. 478-485, 2018.

SILVA, N. R.; SONODA, S. L.; RIBEIRO, S. M. M. S. Spatial and seasonal variation of microcrustaceans (Cladocera and Copepoda) in intermittent rivers in the Jequeizinho River Hydrographic Basin, in the Neotropical semiarid. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Rio Claro, v. 20, p. 197-204, 2008.

SON, H. J.; TAE, P. G.; CHA, M. S.; HEO, L. S. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 97, n. 2, p. 204–210, 2006.

SOUZA, D. M. DE; GARCIA-CRUZ, C. H. Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 331, 2004.

SOUZA, R.; BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; COSTA, P.B.; MEYER, L.; VARGAS, L. K.; SCHOENFELD, R.; PASSAGLIA, L. M. P. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in southern Brazilian fields. **Plant and Soil**, The Hague, v. 366, n. 1/2, p. 585–603, 2012.

SPAEPEN.; J. VANDERLEYDEN. Auxin and plant-microbe interactions. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, Bungtown, v. 3, n. 4, 2011.

STOFFEL, S. C. G.; ARMAS, R. D.; GIACHINI, A. J.; ROSSI, M. J.; GONZALEZ, D.; MEYER, E.; NICOLEITE, C. H.; ROCHA-NICOLEITE, E.; SOARES, C. R. F. S. Micorrizas arbusculares no crescimento de leguminosas arbóreas em substrato contendo rejeito de mineração de carvão. **Revistas científicas de América Latina y el Caribe**, España y Portugal. v. 22, n. 2, p. 181-188, 2016.

SUE GADNER < <http://wetlandinfo.ehp.qld.gov.au/resources/static/pdf/resources/factsheets/profiles/new-profiles/29113-03-arid-lakes-web.pdf> > Acesso em 02 agt. 2017.

TSAVKELOVA, E. A.; KLIMOVA, S. Y.; CHERDYNTSEVA, T. A.; NETRUSOV, A. I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v. 42, p. 117–126, 2006.

VACHERON, J.; DESBROSSES, L.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINÉ, B.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYE, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, Luasanne, v. 4, p. 356, 17 set. 2013.

VAN DE POEL, B.; SMET, D.; VAN DER STRAETEN, D. Ethylene and Hormonal Cross Talk in Vegetative Growth and Development. **Plant physiology**, Rockville, v. 169, n. 1, p. 61–72, 2015.

VANDERLINDE, E. M.; HARRIZON, J. J.; MUSZYNSKI, A.; CARLSON, R. W.; TURNER, R. J.; YOST, C. K. Identification of a novel ABC transporter required for desiccation tolerance, and biofilm formation in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 3841. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 71, n. 3, p. 327–340, 2010.

VARDHARAJULA, S.; ALI, S. Z.; GROVER, M.; REDDY, G.; BANDI, V. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v. 6, n. 1, p. 1–14, 2011.

VENTURI, V.; KEEL, C. Signaling in the Rhizosphere. **Trends in Plant Science**, London, v.

21, n. 3, p. 187–198, mar. 2016.

VERMA, S. C.; LADHA, J. K.; TRIPATHI, A. K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 91, n. 2–3, p. 127–141, 2001.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of the root-nodule bacteria**. IPB HANDBOOK n° 15, London:Blackwell Scientific Publ., 1970. p.164.

WILLIAMS, P.; BIGGS, J.; CORFIELD, A., FOX, G.; WALKER, D.; WHITFIELD, M. Designing new ponds for wildlife. **British Wildlife**, London, v. 8, p. 137-150, 1997.

YANCEY, P. H. Water stress, osmolytes and proteins. **American Zoologist**, Thousand Oaks, v. 41, p. 699-709, 2001.

YOUSEIF, S. H. Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria and their effects on the growth of maize plants under greenhouse conditions. **Annals of Agricultural Sciences**, London, v. 63, n. 1, p. 25–35, 2018.

YU, X.; LIU, X.; ZHU, T. H. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 47, n. 4, p. 437–446, 2011.

ZAHID, M.; ABBASI, M. K.; HAMEED, S.; RAHIM, N. Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 6, p. 207, 17 mar. 2015.

ZAHIR, Z. A.; MUNIR, A.; ASGHAR, H. N.; SHAHARRONA, B.; ARSHAD, M. Effectiveness of rhizobacteria containing ACC deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Gangnam-gu, v. 18, n. 5, p. 958–63, 2008.



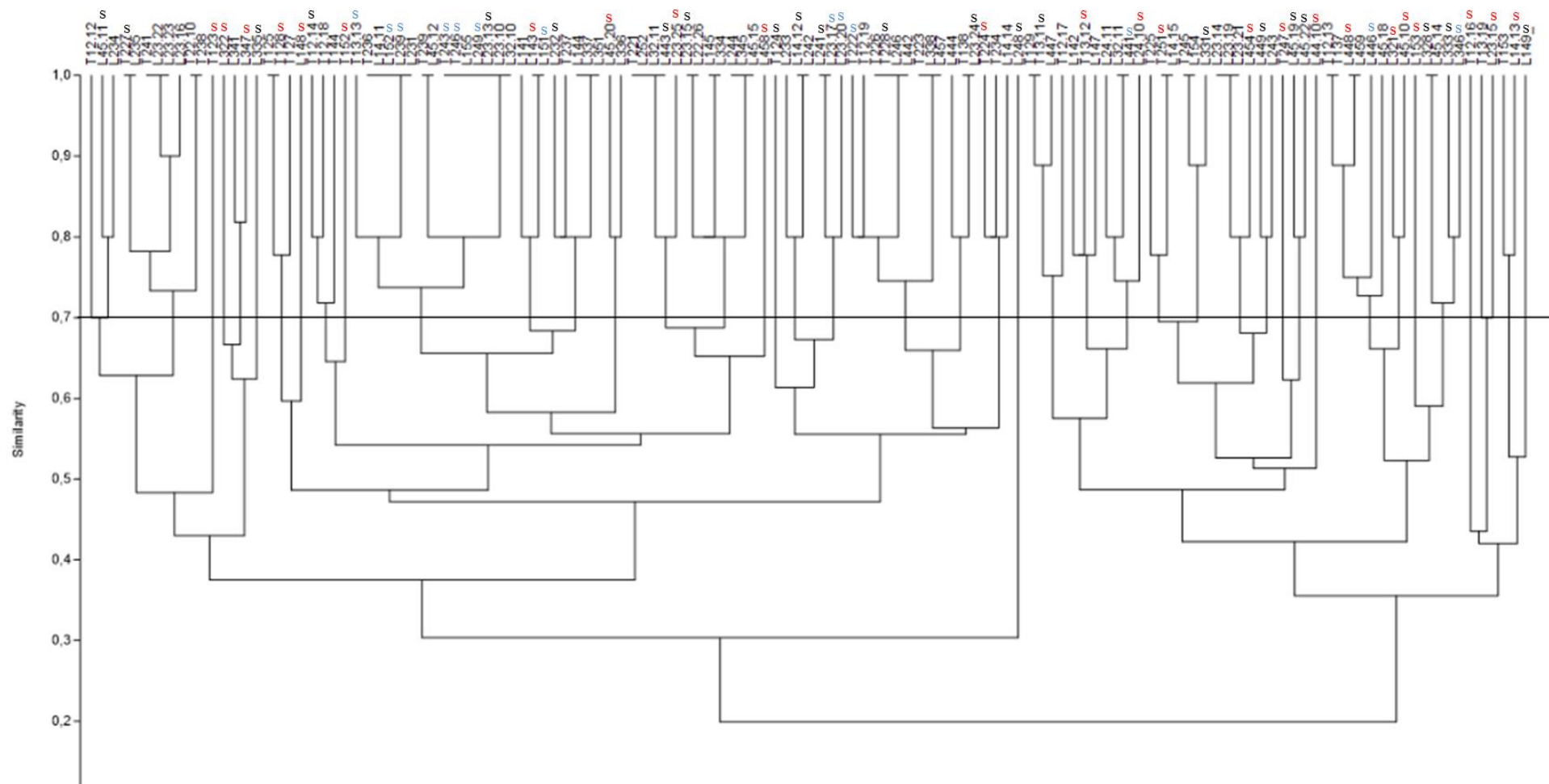


## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Este é o primeiro relato que descreve bactérias associadas à *Mimosa bimucronata* dentro de uma lagoa temporária no semiárido tropical com capacidade de promover o crescimento de plantas;
- Dentro deste contexto, foi observado que o solo rizosférico apresenta um maior número de populações bacteriana (UFC/g solo) quando comparados com o solo adjacente da *Mimosa bimucronata* em uma lagoa temporária, confirmando a importância destes *Hot spots* para manter atividade microbiana mesmo em condições de estresses;
- Os isolados obtidos do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata* foram confirmados o potencial biotecnológico dos mesmos em testes *in vitro*. Estes apresentaram potencial mecanismos de promoção de crescimento vegetal, *in vitro*, como: produção de ácido-3- acético (AIA); solubilização de fosfato; produção de exopolissacarídeos (EPS); formação de biofilme; análise da redução de acetileno (ARA); 1-aminocicloporpoano-1-carboxilato ACC deaminase (ACC); crescimento em meio com reduzida atividade de água ( $A_w$ ); produção de quitinases.
- Devido a demandas por tecnologias que visem uma produção agrícola mais sustentável e maiores tolerâncias ao estresse hídrico, foi testada a inoculação das bactérias em *Zea mays* L. com objetivo de avaliar o potencial das mesmas em promover o crescimento das plantas. Onde foram observados resultados positivos com a inoculação de bactérias selecionadas do solo rizosférico e do solo adjacente da *Mimosa bimucronata*.
- Os resultados do plantio de *Zea mays* L. sob manejo hídrico adequado, mostram que os isolados 38 e 70 aumentaram significativamente a área foliar total e os isolados 28-7 e 28-10 aumentaram significativamente a biomassa seca da raiz. Este aumento pode ter sido atribuído a produção de AIA, fixação de nitrogênio, ou ainda por outro mecanismo não aprofundado no presente estudo;
- Os resultados do plantio de *Zea mays* L. sob estresse hídrico, sugerem que o isolado 43 protegeu *Zea mays* L. contra os efeitos deletérios do estresse hídrico, aumentando significativamente o comprimento do caule, biomassa seca da parte aérea e da raiz. Este resultado pode ser atribuído a produção de AIA, produção de EPS, capacidade de crescer em meio com reduzida  $A_w$  ou ainda por outro mecanismo não aprofundado no presente estudo;
- O uso o consórcio foi tão interessante quanto o uso das linhagens isoladamente, uma vez que os consórcios conferiram aumento no crescimento do *Zea mays* L. além de proteger

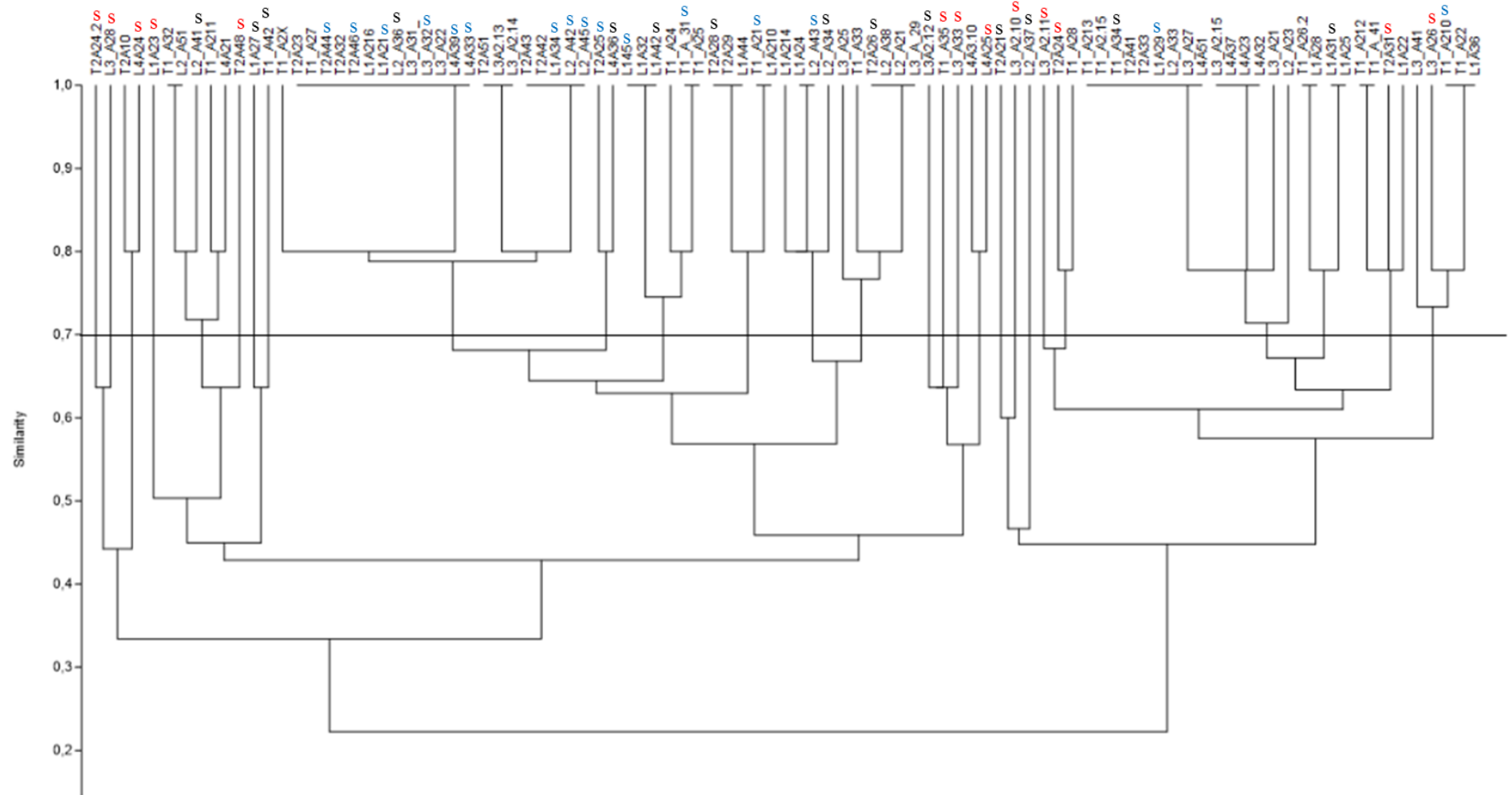
as plantas na presença do estresse hídrico. Porém, algumas linhagens isoladamente promoveram o maior crescimento dos parâmetros avaliados, com isto, a opção pelo uso do consórcio dependerá exclusivamente da possibilidade de criação de uma formulação biológica que seja viável para futuras aplicações;

- É necessário a realização de experimentos em condições de campo para confirmação dos resultados observados em casa de vegetação, e validação da viabilidade do inoculante para futuras aplicações na agricultura.

**APÊNDICE A** - Dendrograma de similaridade com base nas características fenotípicas dos isolados do solo rizosférico da *Mimosa bimucronata*

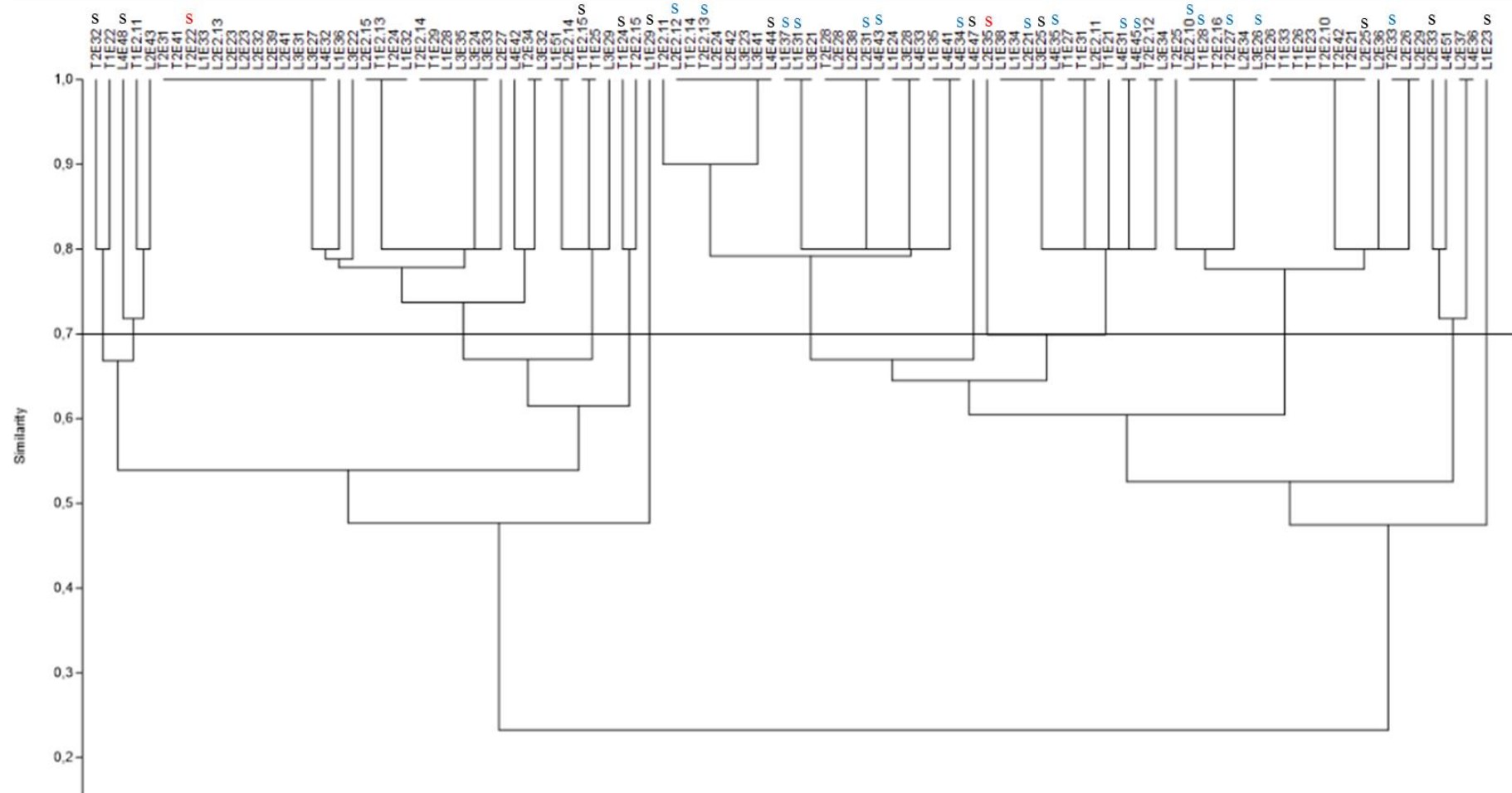
Cor preta da sigla “S” representa os isolados bacterianos selecionados na primeira seleção; cor vermelha representa os isolados que não cresceram *in vitro* e cor azul, representa os novos isolados selecionados

APÊNDICE B - Dendrograma de similaridade com base nas características fenotípicas dos isolados do solo adjacente da *Mimosa bimucronata*



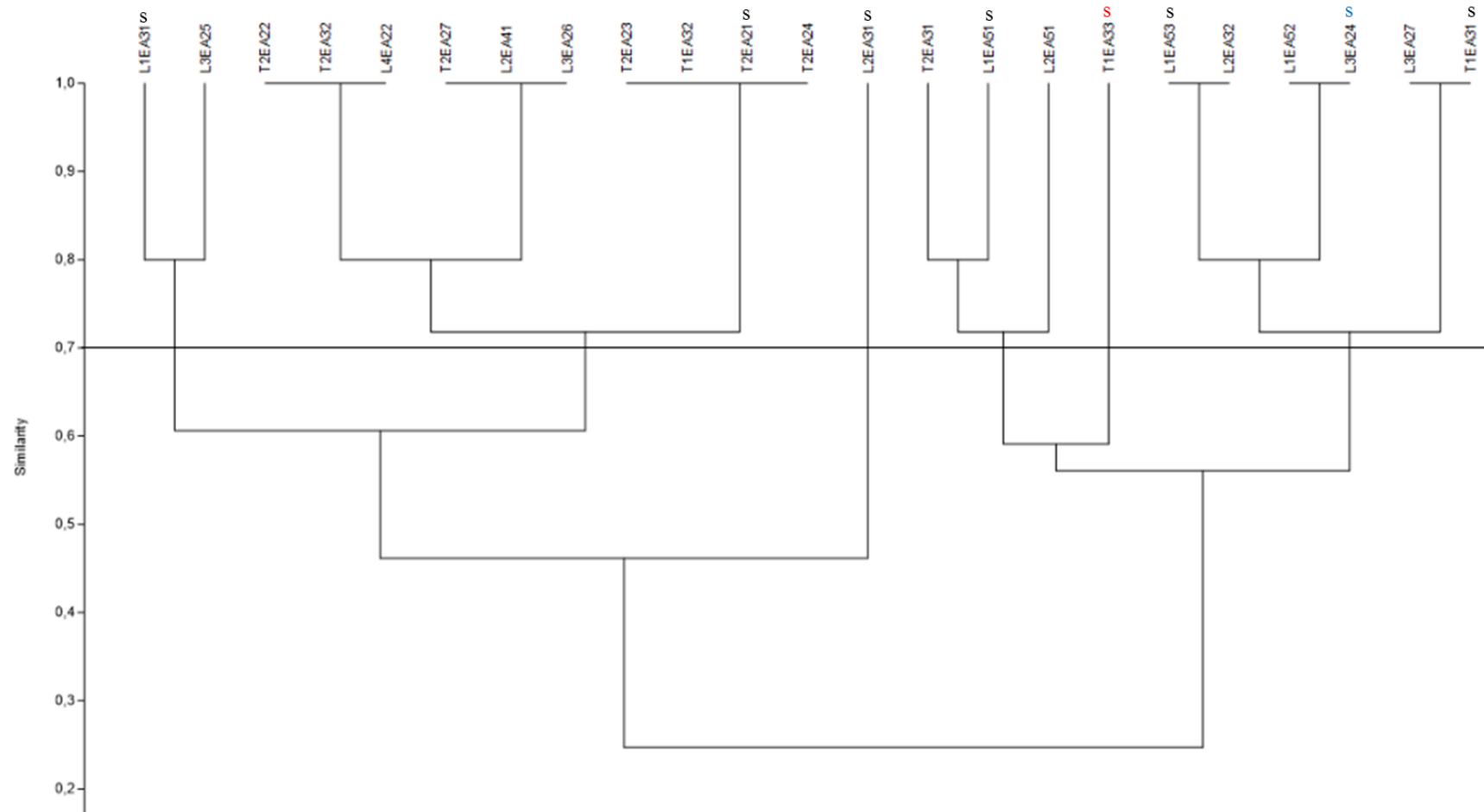
Cor preta representa os isolados bacterianos selecionados na primeira seleção; cor vermelha representa os isolados que não cresceram *in vitro*; cor azul, representa os novos isolados selecionados

**APÊNDICE C - Dendrograma de similaridade com base nas características fenotípicas dos isolados formadores de endósporo do solo rizosférico da *Mimosa bimucronata***



Cor preta representa os isolados bacterianos selecionados na primeira seleção; cor vermelha representa os isolados que não cresceram *in vitro*; cor azul, representa os novos isolados selecionados

**APÊNDICE D** - Dendrograma de similaridade com base nas características fenotípicas dos isolados formadores de endósporo do solo adjacente da *Mimosa bimucronata*



Cor preta representa os isolados bacterianos selecionados na primeira seleção; cor vermelha representa os isolados que não cresceram *in vitro*; cor azul, representa os novos isolados selecionados

**APÊNDICE E** – Identificação dos isolados bacterianos selecionadas a 70% de similaridade utilizando o Programa PAST

IFESA		IFESR		ISA		ISR	
1-	L1EA31	7-	T2E32	24-	L2A41	47-	L45.11
2-	T2EA21	8-	L4E48	24-1-	T1A21	48-	T227
3-	L2EA31	9-1-	L2E31	26-	L1A27	50-	L335
4-	L1EA51	10-	T1E2.15	27-	T1A42	52-	T13.11
5-	T1EA31	11-	T1E24	28-	L2A36	54-	T12.14
6-	L1EA53	12-	L1E29	28-1-	L2A45	57-	L23.15
6-1-	L3EA24	13-	L4E52	28-3-	L1A34	59-	L23.13
		13-1-	T2E2.13	28-4-	L4A39	59-1-	T239
		13-3-	L1E31	28-5-	L4A33	59-2-	T243
		13-4-	L4E43	28-6-	T2A44	59-3-	T246
		13-5-	L1E37	28-7-	L1A21	59-4-	L249
		13-7-	L4E34	28-8-	L3A32	59-5-	T13.13
		13-9-	L2E2.12	28-9-	L2A42	59-6-	L152
		14-	L4E47	28-10-	T2A46	61-	L232
		15-1-	L2E2.10	29-	L4A36	64-	T124
		15-3-	T1E28	29-1-	T2A25	65-	L14.12
		15-4-	T2E26	30-	L1A42	66-1-	L23.17
		15-5-	T2E27	30-1-	L1A45	66-2-	L23.20
		15-6-	T2E33	30-2-	T1A31	66-3-	L241
		16-	L3E25	31-	T2A28	67-	T228
		16-1-	L4E35	32-	L2A34	67-1-	T222
		16-2-	L2E21	32-1-	L2A43	68-	L23.24
		16-3-	L4E45	33-	T2A26	70-	L248
		16-4-	L4E31	33-1-	L1A51	72-1-	L441
		18-	L2E33	34-	L3A2.12	74-	L149
		19-	L1E23	38-	T2A21	76-1-	L446
				40-	L2A37	78-	L328
				43-	T1A34	79-	L333
				43-1-	L1A29	79-1-	L346
				44-	L1A31	81-	L331
				46-	L3A26	82-	L449
				46-1-	T1A2.10	84-	L45.19
						85-	L45.22

IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico

**APÊNDICE F** – Produção de AIA pelos isolados bacterianos selecionados, na presença de L-triptofano

G. IFESA	ID	AIA	G. IFESR	ID	AIA	G. ISA	ID	AIA	G. ISR	ID	AIA
G1	6	12,36	G1	16-3	87,12	G1	<u>24</u>	<u>1,97</u>	G1	47	14,39
	1	10,07	G2	<u>18</u>	<u>117,81</u>		26	9,44		50	5,00
G2	6-1	15,33	G3	15-1	33,87		27	11,24		57	2,96
G3	3	1,34		16-4	43,32		28-1	6,13		59-1	11,64
	<u>4</u>	<u>1,61</u>		16	58,06		28-3	11,53		59-4	19,38
	5	1,03	G4	7	4,17		28-4	11,53		59-5	7,04
G4	1	10,07		8	2,07		28-6	5,30		61	6,02
				9-1	24,70		29	19,46		65	16,71
				10	18,61		30	4,12		<u>66-1</u>	<u>5,66</u>
				11	13,24		30-1	4,53		72-1	9,35
				12	13,93		30-2	7,87		74	3,71
				13	10,10		31	5,50		<u>76-1</u>	<u>7,89</u>
				13-1	9,57		32	10,95		78	1,69
				<u>13-3</u>	<u>8,72</u>		32-1	12,69		79	3,43
				13-4	10,29		33	25,72		81	7,78
				13-5	5,00		<u>38</u>	16,02	G2	<u>67-1</u>	<u>42,08</u>
				13-7	2,69		40	12,58		<u>59-6</u>	<u>42,41</u>
				<u>13-9</u>	<u>11,23</u>		<u>43</u>	<u>10,79</u>		<u>54</u>	<u>49,82</u>
				14	23,95		<u>43-1</u>	<u>9,79</u>		<u>84</u>	<u>26,10</u>
				15-3	4,04		44	10,43		<u>82</u>	<u>25,39</u>
				15-4	1,61		46	5,55		67	28,20
				15-5	3,15	G2	28	39,68		<u>66-3</u>	<u>30,84</u>
				15-6	1,61		33-1	42,05		<u>70</u>	<u>32,91</u>
				16-1	7,93		28-5	45,25		<u>66-2</u>	<u>32,66</u>
				<u>16-2</u>	<u>9,55</u>		29-1	62,47		59-2	32,27
				19	13,35		34	58,14		68	36,93
							<u>46-1</u>	<u>52,74</u>		<u>52</u>	<u>35,79</u>
						G3	<u>24-1</u>	<u>115,91</u>	G3	<u>59</u>	<u>108,35</u>
							<u>28-10</u>	<u>115,66</u>		<u>79-1</u>	<u>108,17</u>
							<u>28-7</u>	<u>114,67</u>		<u>64</u>	<u>108,53</u>
						G4	28-8	81,49		<u>59-3</u>	<u>116,18</u>
							28-9	94,83		<u>85</u>	<u>97,27</u>
									G4	<u>48</u>	<u>83,60</u>

Isolados sublinhados (30) foram selecionados para avaliação da promoção de crescimento em casa vegetação; isolados marcados de cor vermelha (8) foram selecionados devido serem os melhores produtores de AIA; isolados marcados de cor azul (8) foram selecionados por ser bom produtor de AIA e solubilizar fosfato de cálcio.

G: Grupo; ID: Identificação; AIA: Ácido indol acético; IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico



**APÊNDICE G – Índice de solubilização de fosfato de cálcio pelos isolados bacterianos selecionados**

G. IFESA	ID	ISF	G. IFESR	ID	ISF	G. ISA	ID	ISF	G. ISR	ID.	ISF
G1	1	0	G1	7	0	G1	<u>24-1</u>	<u>0</u>	G1	<u>66-2</u>	<u>0</u>
	2	0		8	0		26	0		<u>59-6</u>	<u>0</u>
	3	0		9-1	0		28-1	0		59-4	0
	5	0		10	0		28-3	0		57	0
	6	0		11	0		28-4	0		47	0
	6-1	0		12	0		28-5	0		<u>59</u>	<u>0</u>
G2	<u>4</u>	<u>1,69</u>		13-4	0		28-6	0		59-1	0
				13-5	0		<u>28-7</u>	<u>0</u>		59-2	0
				<u>13-9</u>	<u>0</u>		28-8	0		59-5	0
				14	0		28-9	0		67	0
				15-3	0		<u>28-10</u>	<u>0</u>		68	0
				16	0		29	0		72-1	0
				16-1	0		29-1	0		74	0
				16-3	0		30	0		79	0
				<u>18</u>	<u>0</u>		30-1	0		<u>79-1</u>	<u>0</u>
				19	0		30-2	0		81	0
			G2	13	1,06		31	0	G2	61	1,08
				13-1	1,22		32	0		<u>85</u>	<u>1,08</u>
				16-4	1,43		32-1	0		<u>48</u>	<u>1,11</u>
				15-1	1,20		33	0		<u>52</u>	<u>1,14</u>
				13-7	1,12		33-1	0		<u>66-1</u>	<u>1,14</u>
				15-4	1,24		<u>38</u>	0		<u>70</u>	<u>1,17</u>
				15-5	1,13		40	0		<u>66-3</u>	<u>1,12</u>
				15-6	1,11		44	0		<u>59-3</u>	<u>1,30</u>
			G3	<u>13-3</u>	<u>1,98</u>		46	0		50	1,26
				<u>16-2</u>	<u>2,01</u>	G2	<u>43</u>	<u>1,77</u>		<u>64</u>	<u>1,27</u>
							<u>24</u>	<u>1,71</u>	G3	<u>67-1</u>	<u>1,28</u>
							<u>46-1</u>	<u>1,83</u>		<u>84</u>	<u>1,20</u>
						G3	<u>43-1</u>	<u>2,23</u>		65	1,62
						G4	27	1,14		78	1,64
							34	1,15		<u>54</u>	<u>1,51</u>
							28	1,23		<u>82</u>	<u>1,42</u>
										<u>76-1</u>	<u>1,81</u>

Isolados sublinhados (30) foram selecionados para avaliação da promoção de crescimento em casa vegetação; isolados marcados de cor vermelha (8) foram selecionados devido serem os que apresentaram melhor ISF; isolados marcados de cor azul (8) foram selecionados apresentar solubilização de fosfato de cálcio e ser bom produtor de AIA.

G: Grupo; ID: Identificação; ISF: Índice de solubilização de fosfato; IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico

**APÊNDICE H – Produção de exopolissacarídeos pelos isolados bacterianos selecionados**

G. IFSA	ID	EPS	G. IFESR	ID	EPS	G. ISA	ID	EPS	G. ISR	ID.	EPS
G1	<u>4</u>	<u>9,83</u>	G1	7	11,33	G1	29	30,67	G1	47	12,33
	1	11,00		8	14,33	G2	<u>24-1</u>	<u>12,67</u>		<u>48</u>	<u>13,67</u>
	2	7,67		11	15,67		27	6,93		50	12,50
	5	8,00		12	16,00		28	8,93		<u>52</u>	<u>8,67</u>
	6	8,67		13	16,33		28-1	11,33		<u>54</u>	<u>12,33</u>
G2	6-1	15,67		13-1	10,83		28-3	12,67		<u>59</u>	<u>8,93</u>
G3	3	0,00		13-4	14,33		28-4	9,50		59-1	8,33
				13-7	12,67		28-5	9,17		59-2	8,67
				14	13,33		28-6	9,17		<u>59-3</u>	<u>8,00</u>
				15-1	11,33		<u>28-7</u>	<u>8,00</u>		59-4	9,00
				15-3	13,67		28-8	9,33		59-5	9,67
				15-4	13,33		28-9	10,33		61	9,00
				15-5	12,67		<u>28-10</u>	<u>9,00</u>		<u>64</u>	<u>14,00</u>
				15-6	9,83		29-1	8,67		65	8,67
				16	11,33		30	9,00		<u>66-3</u>	<u>12,33</u>
				16-1	13,67		30-1	8,50		67	8,67
				<u>16-2</u>	<u>14,33</u>		30-2	8,33		<u>67-1</u>	<u>11,67</u>
				16-3	13,33		31	9,00		68	8,67
				16-4	13,93		32	8,33		<u>70</u>	<u>10,00</u>
				<u>18</u>	<u>8,67</u>		32-1	10,00		72-1	13,83
			G2	<u>13-3</u>	<u>25,00</u>		33	8,67		<u>79-1</u>	<u>11,33</u>
				13-5	21,67		33-1	10,33		81	8,50
				<u>13-9</u>	<u>22,83</u>		34	11,33		<u>84</u>	<u>10,67</u>
				19	22,33		<u>38</u>	10,17		<u>85</u>	<u>9,33</u>
				9-1	18,67		40	10,00	G2	<u>82</u>	<u>17,33</u>
			G3	10	35,17		<u>43</u>	<u>8,33</u>		<u>66-1</u>	<u>17,00</u>
							<u>43-1</u>	<u>10,67</u>		57	19,33
							44	6,93		74	21,67
							46	7,67		<u>66-2</u>	<u>23,67</u>
							<u>46-1</u>	<u>12,17</u>	G3	<u>76-1</u>	<u>0,00</u>
						G3	26	16,67		78	0,00
							<u>24</u>	<u>20,67</u>		79	0,00
									G4	<u>59-6</u>	<u>32,33</u>

Isolados sublinhados (30) foram selecionados para avaliação da promoção de crescimento em casa vegetação; isolados marcados de cor vermelha (2) foram selecionados devido serem bons produtores de EPS e AIA; isolados marcados de cor azul (1) foi selecionado por ser bom produtor de EPS e biofilme

G: Grupo; ID: Identificação; EPS: Exopolissacarídeos; IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico

**APÊNDICE I – Produção de biofilme pelos isolados bacterianos selecionados**

G. IFESA	ID	BIOF	G. IFESR	ID	BIOF	G. ISA	ID	BIOF	G. ISR	ID.	BIOF
G1	<u>4</u>	<u>0,10</u>	G1	14	0,57	G1	46	0,54	G1	<u>66-1</u>	<u>0,89</u>
	5	0,11	G2	7	0,21		27	0,33		<u>66-3</u>	<u>0,90</u>
	6	0,14		8	0,15		<u>38</u>	0,33		<u>85</u>	<u>0,98</u>
	1	0,14		9-1	0,12		28	0,34	G2	67	1,24
	2	0,17		10	0,30		30-1	0,41	G3	<u>79-1</u>	<u>0,09</u>
	6-1	0,16		11	0,05	G2	<u>24</u>	<u>0,07</u>		<u>76-1</u>	<u>0,10</u>
G2	3	0,67		12	0,09		<u>24-1</u>	<u>0,17</u>		72-1	0,04
				13	0,08		26	0,16		<u>67-1</u>	<u>0,15</u>
				13-1	0,14		28-1	0,07		<u>66-2</u>	<u>0,09</u>
				<u>13-3</u>	<u>0,18</u>		28-3	0,15		<u>59-6</u>	<u>0,38</u>
				13-4	0,39		28-4	0,06		59-5	0,27
				13-5	0,04		28-5	0,05		59-4	0,18
				13-7	0,09		28-6	0,22		<u>59-3</u>	<u>0,34</u>
				15-1	0,08		<u>28-7</u>	<u>0,08</u>		59-2	0,06
				15-3	0,30		28-8	0,15		59-1	0,35
				15-4	0,09		28-9	0,17		<u>84</u>	<u>0,12</u>
				15-5	0,07		<u>28-10</u>	<u>0,12</u>		<u>82</u>	<u>0,11</u>
				15-6	0,11		29	0,06		81	0,24
				16	0,10		29-1	0,13		79	0,16
				16-1	0,11		30	0,06		78	0,17
				<u>16-2</u>	<u>0,05</u>		30-2	0,11		74	0,10
				16-3	0,06		31	0,24		<u>70</u>	<u>0,09</u>
				16-4	0,12		32	0,03		68	0,12
				<u>18</u>	<u>0,09</u>		32-1	0,09		65	0,37
				19	0,25		33	0,03		<u>64</u>	<u>0,16</u>
			G3	<u>13-9</u>	<u>1,15</u>		33-1	0,05		61	0,09
							34	0,06		<u>59</u>	<u>0,17</u>
							<u>43</u>	<u>0,06</u>		57	0,10
							<u>43-1</u>	<u>0,08</u>		<u>54</u>	<u>0,13</u>
							44	0,08		<u>52</u>	<u>0,20</u>
							<u>46-1</u>	<u>0,18</u>		50	0,20
						G3	40	0,96		<u>48</u>	<u>0,09</u>
									G4	47	0,55

Isolados sublinhados (30) foram selecionados para avaliação da promoção de crescimento em casa vegetação; isolados marcados de cor vermelha (2) foram selecionados devido ser bom produtor de biofilme e solubilizar fosfato de cálcio

G: Grupo; ID: Identificação; BIOF: Biofilme; IFESA: isolados formadores de endósporo do solo adjacente; IFESR: Isolados formadores de endósporo do solo rizosférico; ISA: Isolados do solo adjacente; ISR: Isolados do solo rizosférico

**APÊNDICE J** – Meio de cultura King B (KING; WARD; RANEY, 1954)

Peptona bacteriológica-----	20g/L
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O-----	1,5g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -----	1,5g/L
Ágar-----	15g/L
Glicerina-----	10mL/L
pH 7,2	

**APÊNDICE L** – Meio de cultura Tryptone Soya Broth (TSB)

Peptona de caseína-----	17g/L
Peptona de soja-----	3,0g/L
Glicose-----	2,5g/L
NaCl -----	5,0g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -----	2,5g/L
pH 7,3	

**APÊNDICE M** – Meio de cultura sólido para avaliar solubilização de fosfato de cálcio bibásico (VERMA; LADHA; TRIPATHI, 2001)

Glucose-----	10g/L;
NH <sub>4</sub> Cl-----	5g/L
NaCl-----	1g/L
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O-----	1g/L
CaHPO <sub>4</sub> -----	4 g/L
Ágar-----	15g/L
pH 7,2	

**APÊNDICE N** – Meio de cultura sólido para avaliar solubilização de fosfato de alumínio (HARA; OLIVEIRA, 2004)

Manitol-----	10g/L
Extrato de levedura -----	2g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -----	6g/L
AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O-----	9,67g/L
Ágar-----	18g/L
pH 4,5	

**APÊNDICE O** – Meio de cultura modificado para avaliar produção de exopolissacarídeos (GUIMARÃES et al., 1999)

Extrato de levedura-----	20g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -----	15g/L
MgSO <sub>4</sub> -----	0,2g/L
MnSO <sub>4</sub> -----	0,015g/L
FeSO <sub>4</sub> -----	0,015g/L
CaCl <sub>2</sub> -----	0,03g/L
NaCl-----	0,015g/L
Ágar-----	15g/L
Adicionado 10% sacarose	
pH 7,5	

**APÊNDICE P** – Meio de cultura para bactérias diazotróficas assimbiontes (DÖBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995)

Ácido málico-----	5g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -----	0,6g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -----	1,8g/L
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O-----	0,2g/L
NaCl-----	0,1g/L
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O-----	0,02g/L
Fe EDTA (1,64%)-----	4mL/L
KOH-----	4,5g/L
Solução de micronutrientes-----	1ml/L
Vitamina sem biotina-----	1mL/L
Ágar-----	2,350g/L
Sem azul de bromotimol	
pH 7,5	

**APÊNDICE Q** – Meio de cultura M9 contendo o ácido 1 aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) como única fonte de nitrogênio (PENROSE; GLICK (2003) e SOUZA et al. (2012))

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -----	6g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -----	3g/L
NaCl-----	0,5g/L
MgSO <sub>4</sub> -----	1mL/L
CaCl <sub>2</sub> -----	10mL/L
Glicose-----	2g/L
Ágar-----	15g/L
pH 7,5	

**APÊNDICE R** – Meio de cultura para avaliar a produção de quitinases (HSU; LOCKWOOD 1975)

Quitina coloidal-----	4g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -----	0,7g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -----	0,3g/L
MgSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O-----	0,5g/L
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O-----	0,01g/L
ZnSO <sub>4</sub> -----	0,001g/L
MnCl <sub>2</sub> -----	0,001g/L
Ágar-----	20g/L
pH 7,0	