UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
ESCOLA DE ENGENHARIA INDUSTRIAL METALÚRGICA DE VOLTA REDONDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL

PEDRO SATURNO BRAGA

O PAPEL DA BACTÉRIA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 NA TOLERÂNCIA DO TOMATEIRO CULTIVAR SANTA CRUZ AO ESTRESSE SALINO

VOLTA REDONDA
2023

PEDRO SATURNO BRAGA

O PAPEL DA BACTÉRIA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 NA TOLERÂNCIA DO TOMATEIRO CULTIVAR SANTA CRUZ AO ESTRESSE SALINO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Souza Teodoro
Co-Orientador: Prof. Dr. Adriano Portz

Volta Redonda, RJ
2023

Ficha catalográfica automática - SDC/BEM
Gerada com informações fornecidas pelo autor

B813p Braga, Pedro Saturno
O papel da bactéria Bacillus amyloliquefaciens VR002 na tolerância do tomateiro cultivar Santa Cruz ao estresse salino / Pedro Saturno Braga. - 2023.
92 f.: il.

Orientador: Carlos Eduardo de Souza Teodoro.
Coorientador: Adriano Portz.
Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense, Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda, Volta Redonda, 2023.

1. Agricultura sustentável. 2. Halotolerância. 3. Salinidade. 4. Solanum lycopersicum L.. 5. Produção intelectual. I. Teodoro, Carlos Eduardo de Souza, orientador. II. Portz, Adriano, coorientador. III. Universidade Federal Fluminense. Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda. IV. Título.

CDD - XXX

Bibliotecário responsável: Debora do Nascimento - CRB7/6368

PEDRO SATURNO BRAGA

O PAPEL DA BACTÉRIA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 NA TOLERÂNCIA DO TOMATEIRO CULTIVAR SANTA CRUZ AO ESTRESSE SALINO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental

Aprovada em 28 de fevereiro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Eduardo de Souza Teodoro – UFF
Orientador

Prof. Dr. André Marques dos Santos – UFRRJ

Prof.(a). Dr.(a) Ana Carolina Callegario Pereira – UniFOA

Volta Redonda
2023

Dedico este trabalho aos meus avós,

Tininha e José Amaro,

Eny e Luiz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado a vida e por estar sempre presente.

Aos meus pais, Guto e Sueli, pelo seu amor, carinho, compreensão e apoio. Vocês são especiais.

À minha namorada Débora, pelo seu carinho e amor. Por todas as coisas que passamos juntos e por ser essa companheirona, que me diverte, traz sorrisos e partilha comigo muitas gargalhadas.

Ao professor Carlos Eduardo, pela sua paciência, ensinamentos e incentivo. Por ter me concedido tema tão interessante e por ter me apoiado e acreditado em mim desde o princípio.

Aos meus companheiros do Laboratório de Biotecnologia, Álef Sousa, Luciana Abreu, Mateus Peixoto, Thiago Guimarães e Thiago Queiroz. Ao lado de vocês aprendi muito e não seria possível realizar a minha pesquisa sem todo o companheirismo de vocês. Muito obrigado.

Este trabalho foi realizado por muitas mãos e estendo meus sinceros agradecimentos aos alunos e amigos Paula Alexandra, Luiza Jacobino, Bruno Arantes, João Moraes, Laura. Antenor, Daniel, Brenda e Tasso. Vocês se fizeram presentes e juntos passamos momentos especiais.

Aos técnicos de laboratório, o meu agradecimento: Alexandre, Celso, Everson, Livia, Matheus e Nathália, sempre prestativos, atenciosos e dispostos a nos ajudar.

Ao meu co-orientador Adriano, pelas conversas, escutas e auxílios em estatística.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental, por todo ensinamento, apoio e incentivo.

A minha banca examinadora de qualificação, professores André e Afonso, por terem aceitado avaliar o meu trabalho e pelas suas sábias contribuições. E a minha banca examinadora final, professora Ana Carolina e professor André, que são muito generosos e me acompanham e auxiliam desde a graduação.

Aos funcionários da Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda, amigos da portaria, cantina, faxina e manutenção. Vocês nos fizeram sentir em casa.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos, que foi suporte necessário para que a vida acadêmica fluísse com mais tranquilidade.

Às amizades construídas no pátio, as quais fizeram as horas de almoço, lanche e descanso serem muito mais divertidas.

Às amizades dos alunos dos laboratórios vizinhos, companheiros de mestrado, doutorado e IC.

Aos amigos da minha turma do PGTA, Dani, Rafael e a todos colegas com quem tive um contato menor, devido à pandemia e estarmos online, mas que foi bem bacana as vezes que pudemos nos reunir.

Aos amigos da vida, a minha família, que estão sempre juntos nas alegrias e tristezas.

E a cada pessoa que me ajudou, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

O solo é fértil e há sementes e cérebros

Pedro Saturno Braga

RESUMO

Devido ao crescimento da população humana, a necessidade por terras agricultáveis se torna imprescindível para o abastecimento alimentar e promoção da subsistência. Recentemente, devido a modificações antrópicas, muitos solos têm sido alterados, perdendo a sua fertilidade, biodiversidade e saúde. O uso de técnicas inadequadas para realizar o manejo agronômico faz com que o solo perca os seus nutrientes, se degrade, seja contaminado e salinizado. Perante o problema da salinidade é que surgem tecnologias para tentar remediar esses ambientes ou pelo menos promover resistência às espécies para sobreviverem a essas novas condições de vida. Dentre essas tecnologias, estão as Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal, que interagem com o vegetal de forma simbiótica conferindo-o maior resistência às adversidades do solo. Um dos gêneros de bactérias que realizam essa simbiose é o *Bacillus*. O presente trabalho teve como objetivo investigar a halotolerância da bactéria *Bacillus amyloliquefacien*s VR002, além de estudar a sua capacidade em promover tolerância à salinidade nas plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*). Foram feitos testes do crescimento da VR002 em diferentes concentrações salinas e experimentos inoculando a *B. amyloliquefaciens* VR002 e o sobrenadante da cultura nas sementes e plantas de tomateiro. A partir da curva de crescimento foi possível perceber a halotolerância da VR002 nas doses de 0, 250, 500, 1000 e 1500 mM de cloreto de sódio (NaCl). A partir dos parâmetros de germinação, após 7 dias de semeadura em substratos de 0, 50, 100 e 150 mM NaCl, foi possível perceber que a inoculação com a VR002 contribui com o ganho da massa seca das radículas quando essas cresceram em 50 mM de NaCl. A partir dos parâmetros morfológicos, como o Índice de Qualidade de Dickson foi observado que as mudas que tiveram melhor qualidade após 65 dias de semeadura foram aquelas que não receberam estresse salino. A partir de parâmetros bioquímicos como: o Índice de Clorofila Falker, verificou-se que os tomateiros crescidos nas doses de 0 e 150 mM de NaCl tiveram aumento da clorofila *a* e clorofila total quando receberam a inoculação de sobrenadante, água ou bactéria nas sementes e posteriormente a inoculação da VR002 no colo da planta; Aumento do pigmento carotenóide, quando estressados com 150 mM de NaCl e inoculados a VR002 na semente e no colo da planta. Aumento do teor de prolina e diminuição do extravasamento de eletrólitos quando estressados com 150 mM de NaCl e inoculados com sobrenadante nas sementes e VR002 no colo das plantas. Concluindo, a *B. amyloliquefaciens* VR002 contribui principalmente para os parâmetros bioquímicos que auxiliam na halotolerância dos tomateiros cv. Santa Cruz.

Palavras-chave: Agricultura sustentável. Halotolerância. Salinidade. *Solanum lycopersicum* L.

ABSTRACT

Due to the growing human population, the need for agricultural land has become indispensable for food supply and the promotion of livelihoods. Recently, due to anthropogenic modifications, many soils have been altered, losing their fertility, biodiversity, and health. The use of inadequate techniques to carry out agronomic management causes the soil to lose its nutrients, degrade, and contaminate. One of these situations is the increase in salinity. Faced with the existence of this type of degradation is that technologies arise to try to remediate these environments or at least promote resistance to species to survive these new living conditions. Among these technologies are Plant Growth Promoting Bacteria, which interact with the plant in a symbiotic way and help it to be more resistant to soil adversities. One of the genera of bacteria that perform this symbiosis is *Bacillus*. The present work aimed to investigate the halotolerance of *Bacillus amyloliquefaciens* VR002, and to study its ability to promote tolerance to salinity in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. We tested the growth of VR002 in different saline concentrations and performed experiments inoculating *B. amyloliquefaciens* VR002 and the supernatant of the culture on seeds and tomato plants. From the growth curve it was possible to see the halotolerance of VR002 at doses of 0, 250, 500, 1000 and 1500 mM of sodium chloride (NaCl). From the germination parameters, after 7 days of sowing in substrates of 0, 50, 100 and 150 mM NaCl, it was possible to realize that the inoculation with VR002 contributes with the gain of dry mass of the rootlets when they grew in 50 mM NaCl. From morphological parameters, such as the Dickson Quality Index it was observed that the seedlings that had the best quality after 65 days of sowing were those that did not receive salt stress. From biochemical parameters such as: the Falker Chlorophyll Index, it was found that tomato plants grown in doses of 0 and 150 mM NaCl had increased chlorophyll *a* and total chlorophyll when they received the inoculation of supernatant, water or bacteria in the seeds and subsequently the inoculation of VR002 in the neck of the plant; Increase of the carotenoid pigment, when stressed with 150 mM NaCl and inoculated VR002 in the seed and in the neck of the plant. Increased proline content and decreased electrolyte extravasation when stressed with 150 mM NaCl and inoculated with supernatant in the seed and VR002 in the plant neck. In conclusion, *B. amyloliquefaciens* VR002 contributes mainly to biochemical parameters that assist in the halotolerance of tomato plants cv. Santa Cruz.

Keywords: Halotolerance. Salinity. *Solanum lycopersicum* L. Sustainable agriculture.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 14

2. OBJETIVOS 17

2.1. OBJETIVO GERAL 17

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 17

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 18

3.1. SOLO E A SALINIDADE 18

3.1.1. Características dos solos salinos e a importância da qualidade da irrigação 20

3.2. O EFEITO DA SALINIDADE NAS PLANTAS 21

3.2.1. O efeito da salinidade na germinação 22

3.2.2. O efeito da salinidade no desenvolvimento das plantas 22

3.2.3. A tolerância de diferentes vegetais à salinidade 23

3.3. TOMATEIRO (*Solanum lycopersicon* L.) 24

3.4. BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL 26

3.5. GÊNERO *Bacillus* 29

3.5.1. *Bacillus amyloliquefaciens* 30

4. MATERIAIS E MÉTODOS 33

4.1. LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO 33

4.2. CULTIVO DAS COLÔNIAS DE BACTÉRIAS 33

4.2.1. Efeito de diferentes concentrações de NaCl sobre o crescimento de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 34

4.3. EFEITO DE INOCULAÇÃO DA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 OU DO SOBRENADANTE DA CULTURA BACTERIANA NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE TOMATEIRO CULTIVAR SANTA CRUZ EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NaCl 34

4.4. CONDIÇÕES DE PLANTIO E CRESCIMENTO DO TOMATEIRO CV. SANTA CRUZ E INOCULAÇÃO DE *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 E/OU SOBRENADANTE DA CULTURA NAS SEMENTES E NO COLO PLANTA 37

4.4.1. Local e condições para o plantio 37

4.4.2. Preparação do substrato para plantio dos tomateiros 37

4.4.3. Inoculação das sementes e semeadura 38

4.4.4. Irrigação das plantas e fertilização mineral 39

4.4.5. Inoculação das plantas de tomateiro cv. Santa Cruz 39

4.4.6. Indução do estresse salino nas plantas de tomateiro da cv. Santa Cruz 39

4.4.7. Colheita das plantas 39

4.5. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE *B. amyloliquefaciens* VR002 E/OU SOBRENADANTE DA CULTURA SOBRE O TOMATEIRO CV. SANTA CRUZ CULTIVADO SOB ESTRESSE SALINO 40

4.5.1. Índice de Qualidade de Dickson 40

4.5.2. Análise não destrutiva da clorofila a partir do clorofilômetro 40

4.5.3. Pigmentos Fotossintéticos 41

4.5.4. Avaliação do teor de prolina 42

4.5.5. Peroxidação Lipídica 42

4.5.6. Extravasamento de Eletrólitos 43

4.6. TESTES ESTATÍSTICOS 43

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES 44

5.1. HALOTOLERÂNCIA DA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 44

5.2. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 OU DO SOBRENADANTE DA CULTURA SOB A GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE TOMATEIRO CV. SANTA CRUZ EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES SALINAS 46

5.2.1. Porcentagem (%) de germinação 46

5.2.2. Comprimento das radículas e partes aéreas 47

5.2.3. Massas das radículas e partes aéreas 49

5.3. EFEITO DA INOCULAÇÃO DA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 E/OU DO SOBRENADANTE DA CULTURA SOBRE PARÂMETROS MORFOLÓGICOS DOS TOMATEIROS 65 DIAS APÓS SEMEADURA 52

5.3.1. Altura, diâmetro, comprimento da raiz e número de folhas 52

5.3.2. Massa fresca e massa seca 54

5.3.3. Relação entre os parâmetros morfológicos 56

5.4. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 E/OU SOBRENADANTE DA CULTURA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DOS TOMATEIROS 65 DIAS APÓS SEMEADURA 57

5.4.1. Índice de Clorofila Falker (ICF) 57

5.4.2. Pigmentos Fotossintéticos (método espectrofotométrico) 58

5.4.3. Conteúdo de mandolialdeído e aldeídos 60

5.4.4. Extravazamento de Eletrólitos 61

5.4.5. Teor de Prolina 62

6. CONCLUSÃO 65

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 66

1. INTRODUÇÃO

A crise ambiental que vem se agravando desde a revolução industrial, tem sido um fator de grande apreensão devido à insustentabilidade das atividades humanas. O aumento da população e a ocupação dos ecossistemas terrestres vem causando uma alta exploração dos recursos naturais, excedendo assim a capacidade regenerativa de muitos ecossistemas (ELOI *et al.*, 2007; GARCIA-AYLLON & RADKE, 2021).

O manejo indevido do solo envolvendo a grande quantidade de fertilizantes utilizados e o excesso de irrigação de fontes inadequadas, levam ao aumento dos níveis de salinidade nos solos, atingindo os limites de tolerância de diversas culturas, levando a redução da sua produção no decorrer dos seus ciclos consecutivos (GHAFOOR *et al*., 2004; QADIR & OSTER, 2004).

Este aumento de salinidade tornou-se um problema atual de grande importância a nível global, sendo um obstáculo em relação aos objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS) relativos à agricultura e nutrição (SAHAB *et al*., 2021).

Uma das principais substâncias que interferem na salinidade, é o NaCl. Ele afeta aspectos fisiológicos das plantas, a partir da diminuição do potencial hídrico do solo. Como a água é um recurso imprescíndivel para o desenvolvimento das plantas, elas acabam sofrendo um estresse hídrico, devido ao estresse salino (CRUZ *et al.*, 2006; FAVARIN, 2017).

Além disso, o sódio (Na) acarreta efeitos tóxicos diretos, sobretudo nos sistemas enzimáticos e de membranas (BETHKE & DREW, 1992; YAHYA, 1998). Logo, o excedente de sais vai implicar na perda de produtividade e qualidade das culturas não tolerantes, podendo ocorrer a total perda de produção, dependendo da concentração salina do local (RHOADES, KANDIAH & MASHALI, 2000).

A presença de sais no solo é consequência de um conjunto de causas. Fatores climáticos, como o baixo índice pluviométrico e a elevada taxa de evapotranspiração, fazem com que as plantas precisem ser irrigada mais vezes. A baixa incidência de chuva diminuí o fenômeno da lixiviação e dependendo da qualidade da água utilizada para irrigação, ela pode aumentar o aporte de sais no solo. Fatores edáficos também contribuem para a diminuição da lixiviação. Devido a existência de camadas impermeáveis no solo, os sais acabam se acumulando nestes espaços de menor infiltração, não conseguindo ser carreados até os lençóis freáticos e modificando características edáficas e hidrológicas daquele ecossistema (GHAFOOR *et al*., 2004; QADIR & OSTER, 2004; TAIZ & ZAIGER, 2013).

Por fim, os fatores antrópicos, são uma grande parcela desse problema. O manejo utilizado pela agricultura intensiva, a fim de aumentar a produtividade momentânea faz com

que uma série de excessos sejam cometidos. A utilização de água desmedida, o excesso de fertilizantes e a cultura de utilização dos agroquímicos, acabam modificando características físicas e químicas do solo, poluindo e contaminando os ambientes terrestes e consequentemente, os ambientes aquáticos e atmosféricos (GHAFOOR *et al*., 2004; QADIR & OSTER, 2004).

Em relação aos fertilizantes, estes estão intimamente relacionados com a incidência de sais. Partindo do conhecimento, de que todo sal se forma pela união de pelos menos dois elementos - um metálico e um não metálico -, quando são adicionados Nitrato de Potássio, Nitrato de Cálcio, Fosfato de Amônio, Sulfato de Magnésio, para promover a nutrição mineral, a quantidade de cátions e ânions dispostos naquele ambiente aumenta. Esse aporte de nutrientes, pode fazer muito bem às plantas, desde que sejam feitos estudos prévios para estabelecer as dosagens e frequências que essa fertilização irá acontecer. Porém, quando aplicados em excesso, eles acabam aumentando os níveis de salinidade do ambiente (TAIZ & ZAIGER, 2013).

Em relação à irrigação, um estudo constatou que se um solo receber o aporte anual de 979 kg de sal/ha/ano, em aproximadamente 28 anos ele estaria com 27.648 kg de sal/ha, transformando um solo com características normais em salino. Essa concentração de sais será um dos fatores que contribuirá para a redução da condutividade hidráulica, da permeabilidade e taxa de infiltração de água no solo (BATISTA *et al.*, 2002).

Esses fatores que afetam o solo, vão resultar em reflexos nas plantas, influenciando as culturas de duas formas. Aumentando o potencial osmótico do solo, onde quanto maior for a salinidade, maior será a energia que a planta gastará para absorver a água e os nutrientes próximos da rizosfera. E promovendo toxidez ao vegetal devido a presença de alguns componentes químicos, especialmente o sódio (Na^{+}), boro (B^{+3}), bicarbonatos $(HCO_3)^{-}$ e cloretos (Cl^{-}), os quais em concentração elevada irão causar distúrbios fisiológicos nas plantas (BATISTA *et al*., 2002).

Entretanto nem todos os vegetais serão afetados pelos sais, pois a biodiversidade e variabilidade genética, conferem a cada cultura a capacidade de reagir de forma diferente em relação a essa condição. As glicófitas são sensíveis a pequenos níveis de sal, já as halófitas apresentam rendimentos razoáveis, quando expostas a altos níveis. Esses resultados se diferem devido às variadas respostas bioquímicas que cada espécie apresenta, sendo as mais tolerantes, as que tem maior osmoproteção (AYERS & WESTCOT, 1999).

Porém, os vegetais que não apresentam essa tolerância tão abrangente, além de sofrerem por deficit hídrico, também são prejudicados pela acumulação citotóxica dos íons de

Cl^- e Na^+. Uma dessas culturas, é o tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). Ele é moderadamente sensível ao sal, demonstrando uma diminuição de 50% no seu rendimento quando exposto a aproximadamente 70 milimols (mM) de NaCl (SUBBARAO & JOHANSEN, 1999).

Logo, com a presença de sais acima desses níveis, eles sofrem danos tanto em sua morfologia, como em seus componentes bioquímicos. Por isso, essa espécie é utilizada como objeto de estudo, pois quando expostas a níveis salinos moderados, são capazes de demonstrar os efeitos dos sais nas plantas e verificar se algum tratamento utilizado para a mitigação desses efeitos, está sendo efetivo (TAJ & CHALLABATHULA, 2021).

Sabendo que a salinidade nas terras agricultáveis está crescente, estudar formas para que as plantas consigam tolerá-la é importante e urgente para o futuro da agricultura. Pesquisas que objetivam amenizar os efeitos do sal nas plantas, têm utilizado o tomateiro para a verificação desses tratamentos (WANG *et al*., 2019; MASMOUDI *et al*., 2021).

Dentre essas pesquisas, a utilização de tecnologias como o uso de Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCVs) para a diminuição do estresse abiótico está ganhando visibilidade e importância (KIM *et al.*, 2017). Diversas BPCVs têm sido utilizadas para colonizar a rizosfera e conferir habilidade de gerar biofilme, quimiotaxia e produção de Exopolissacarídeos (EPS) (FENG *et al*., 2018; WANG *et al*., 2019; MASMOUDI *et al*., 2021).

O uso de BPCVs auxilia no aumento do crescimento da planta, diminuindo a vulnerabilidade a doenças provocadas por fungos patogênicos, insetos, vírus e nematoides, além de beneficiar o crescimento perante circunstâncias de estresse abiótico, como seca e salinidade (TURATTO, 2015; KIM *et al.*, 2017; NAZIR, 2108; ABREU, 2021).

A partir da parceria com as BPCVs, vem sendo desenvolvidos inoculantes para os vegetais. Eles possuem a capacidade de incitar o desenvolvimento das plantas em distintos períodos de vida, de maneira direta ou indireta, através de uma união simbiótica, onde os vegetais vão oferecer proteção e nutrição para essas bactérias e elas oferecerão tolerância a estresses ambientais, dentre outras funções importantes.

As bactérias do gênero *Bacillus* demonstraram potencial para serem utilizadas como inoculantes microbianos, por causa da sua competência em minimizar os resultados nocivos do estresse salino, hídrico e oxidativo, além de favorecer a regulação das características morfológicas e bioquímicas do vegetal (GHYSELINCK *et al*., 2013; PINTER *et al*., 2017).

O presente trabalho testou os efeitos de diferentes arranjos contendo os *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 e/ou o sobrenadante da cultura desta bactéria para auxiliar no crescimento e desenvolvimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) sob estresse salino induzido pelo cloreto de sódio (NaCl).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta morfológica e bioquímica do tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) cultivar Santa Cruz, sob estresse salino induzido, inoculado com *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 e/ou com o sobrenadante da cultura bacteriana.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a halotolerância de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 às diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl);
- Avaliar o efeito da inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 e do sobrenadante desta cultura, na germinação das sementes do tomateiro cultivar Santa Cruz expostas às diferentes concentrações de NaCl;
- Avaliar o efeito da inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 e/ou do sobrenadante desta cultura, nas caracteríticas morfológicas das plantas de tomateiro cultivar Santa Cruz submetidas à estresse salino;
- Avaliar o efeito da inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 e/ou do sobrenadante desta cultura nos parâmetros bioquímicos das plantas de tomateiro cultivar Santa Cruz submetidas à estresse salino.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. SOLO E A SALINIDADE

A salinização do solo se desenvolve de diferentes formas, seja por fatores ambientais ou pelas ações antrópicas. Um dos fatores ambientais ocorre através do transporte dos sais de regiões salinas para regiões não salinas, através da evaporação da água do mar, da movimentação dos ventos e da preciptação, fazendo com que os sais se depositem em regiões agrícolas próximas ao litoral (SAHAB, 2021).

Outros fatores, são os aspectos geológicos e climáticos de cada região. Em solos mais jovens, onde as rochas sofreram a menor ação do intemperismo, o acúmulo de sais é maior, devido a ausência de chuvas no local e a baixa lixiviação. Este fenômeno é comum das regiões áridas e semi-áridas e pode ser observado tanto no nordeste brasileiro, como em regiões desérticas do mundo (PEREIRA, 1983; SOBRAL *et al. 2*015; SAHAB, 2021).

Porém, alguns fatores fogem aos naturais. A atuação humana, na agricultura através da irrigação desmedida e a utilização de fertilizantes em excesso pode fazer com que um solo, sem características salinas, acabe se salinzando devido ao inadequado manejo da agricultura (PEREIRA, 1983; KANZARI *et al.*, 2012; SALVATI & FERRARA, 2015; DALIAKOPOULOS *et al*., 2016; WALTER *et al*., 2018).

Quanto aos fertilizantes, quando esses trazem um grande aporte de catíons como sódio (Na^+), cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}) e em menores quantidades o potássio (K^+), e ânions como cloreto (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}), bicarbonato (HCO_3^-), carbonato (CO_3^{2-}), e nitrato (NO_3^-), isso pode influenciar na salinização dos solos, pois esses são os mais importantes íons presentes em solos salinos (QADIR, GHAFOOR & MURTAZA, 2000; SAHAB *et al.*, 2021). Além disso, ja foi estudado que os fertilizantes com nitrogênio inorgânico, em sua composição, podem diminuir a saúde e fertilidade dos solos, impactando na comunidade microbiana, reduzindo a complexa rede que interconecta as bactérias, o que possivelmente afeta na ciclagem dos nutrientes do solo. Logo, é necessário fazer o uso desses produtos com parcimônia e existem alternativas para diminuí-los, como por exemplo as bactérias promotoras de crescimento vegetal (ETESAMI & ALIKHANI, 2016; ZHANG *et al*. 2021).

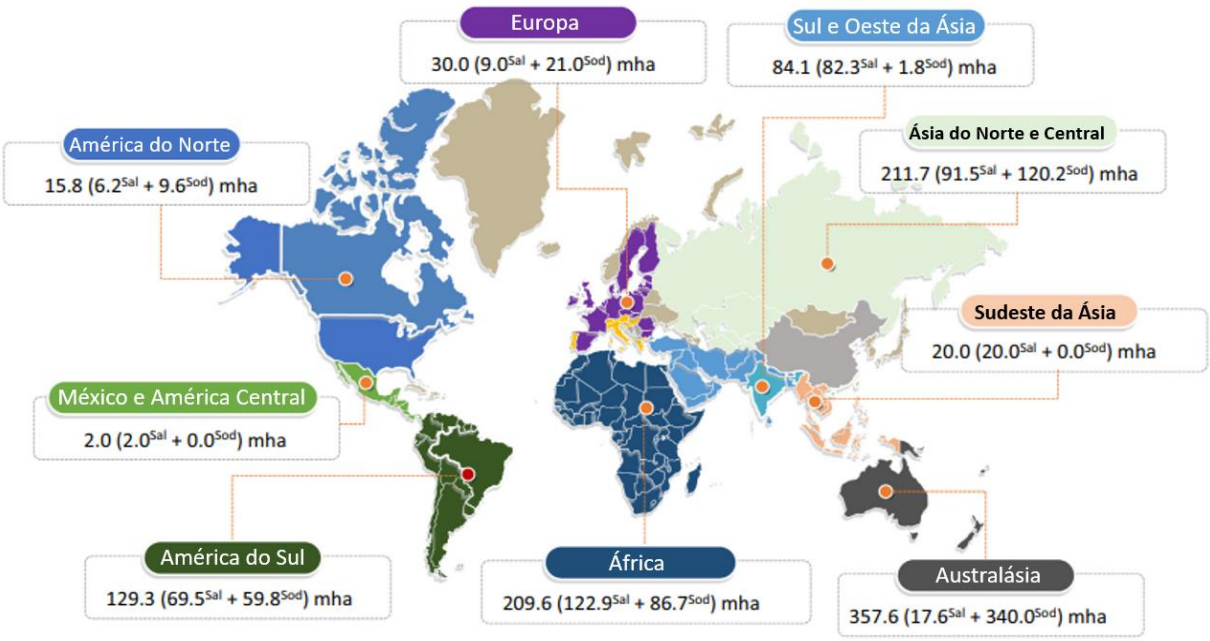
Outro fator antrópico que contribuí muito para salinidade dos solos é o excesso de irrigação com águas salinas. Devido a escassez de recurso hídricos, a agricultura tem utilizado águas com maior aporte de sais ou de menor qualidade, advindas de poços artesianos, águas de efluentes domésticos tratados e de salmoura das estações de tratamento de águas salobras. A

utilização indiscriminada dessas águas, têm tido efeito na salinização dos solos e consequentemente na saúde das plantas (DIAS *et al.*, 2016). Além disso, as mudanças climáticas têm contribuido com o aumento do nível do mar, fazendo com que as águas marinhas invadam as terras, e trazendo à tona mais uma vez o problema da salinidade, como é possível observar na província Cà Maué, no Vietnã (DEB, TRAN & UDMALE, 2016).

Porém, não só nas regiões anteriormente mencionadas, os solos salinos e sódicos estão presentes. Na Figura 1 é possível observar a sua distribuição ao longo do mundo todo (SAHAB *et al.*, 2021). Estimativas apontam que até 2050, metade dos solos agricultáveis ao longo do planeta Terra poderão estar afetados pela salinidade. Logo, buscar alternativas que visem evitar essa situação e aprender a lidar com as terras que já estão afetadas, é muito importante. Por isso, esforços tem sido empregado para a promoção da halotolerância das plantas e para a recuperação da fertilidade dos solos salinos (KUMAR *et al.*, 2020).

Com esses passos em consonância é possível caminhar na direção de alguns dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, os quais pretendem garantir a segurança alimentar das presentes e futuras gerações, antingir a fome zero, desenvolver a agricultura sustentável (ODS 2) e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestes, combatendo a desertificação e pausando e revertendo o quadro de degradação dos solos (ODS 15) (SAHAB *et al.*, 2021; ONU, 2023).

Figura 1: Distribuição global das áreas terrestres afetadas por solos salinos (sal) e sódicos (sod). Dados apresentados em milhões de hectares (mha).



Fonte: SAHAB, *et al.* 2021, adaptada pelo autor.

3.1.1. Características dos solos salinos e a importância da qualidade da irrigação

A degradação dos solos pelos sais é um assunto que já vem sendo estudado desde o século XIX, tendo como precursor o pedologista Eugene Woldemar Hilgard (1833-1916). Este assunto foi ganhando cada vez mais interesse, à medida que as áreas irrigadas aumentaram, pois muitos cientistas sabendo que os sais afetavam as plantas, desejavam desenvolver técnicas de manejo adequado para não salinizar ou para recuperar os solos que ja haviam sido degradados (PEREIRA, 1983). Logo, surgiram esquemas de classificação dos solos afetados por salinidade, a partir da medição de algumas propriedades edáficas, como o Potencial Hidrogeniônico (pH), a Condutividade Elétrica do extrato de saturação (CE), a Porcentagem de Sódios Trocáveis (PST), a Razão de Adsorção de Sódio (RAS) e a relação do Carbonato de Sódio Residual (CSR) (PEREIRA, 1983; SAHAB *et al.* 2021).

Os solos salinos são aqueles que têm pH menor que 8,5, CE maior que 4 (dS/m), PST menor que 15 e RAS menor do que 13. Os solos sódicos, são aqueles com pH maior que 8,5, CE menor que 4 (dS/m), PST maior que 15 e RAS maior que 13. Já os solos salinos-sódicos são aqueles com pH menor que 8,5, CE maior que (4 dS/m), PST maior que 15 e RAS maior que 13 (PEREIRA, 1983; SOBRAL, *et al.* 2015). É importante observar neste ponto a razão de adsorção do sódio, pois ela mede as relações entre os íons Sódio (Na^+), Cálcio (Ca^{2+}) e Magnésio (Mg^{2+}), a partir da fórmula de RAS, onde cada elemento é expresso em miliequivalente por litro (mEq/L).

$$Relação\ de\ adsorção\ do\ Sódio\ (RAS) = \frac{Na^+}{\sqrt{\frac{Ca^{2+} + Mg^{2+}}{2}}}$$

O resultado desse cálculo expressa o quanto de sódio está presente, em relação ao cálcio e ao magnésio. Este conhecimento é pertinente, pois a alta presença de Na^+ age como uma fator dispersante desses dois cátions, pois Na^+ compete pelas cargas negativas dos colóides e consequentemente faz com que os íons de cálcio e magnésio se desagreguem. Este fenômeno, pode gerar um desequilíbrio de nutrientes disponíveis para as planta, e ainda mudar a Capacidade de Troca Catiônica do solo (PEREIRA, 1983; SOBRAL, *et al.* 2015).

Por isso, é importante tomar cuidado com a água de irrigação a ser utilizada, pois quanto maior for a CE e o RAS, maior será a introdução de sais para as terras agrícolas. Logo, para nortear quais águas são de boa qualidade para o solo e cultura, a *United States Salinity Laboratory Staff* (1954), montou um diagrama que classifica as águas para irrigação e indica o perigo que cada classe têm em salinizar os solos. Esses perigos variam entre baixo, médio, alto e muito alto, sendo as águas de melhor qualidade aquelas com menor CE e RAS (ALLISON *et*

al., 1954; ZAMAN, SHAHID & HENG, 2018).

Um outro ponto a ser observado é a relação de carbonato de sódio residual (CSR). Este conceito foi elaborado por Eaton (1950) e propõe que os solos sódicos também são formados pela alta presença de carbonato (CO_3^{2-}) e bicarbonato (HCO_3^-) em comparação com os íons Ca^{2+} e Mg^{2+}. A presença desses ânions, advindas da irrigação faz com que após a evaporação da água e a absorção dos nutrientes pela raiz, os carbonatos que sobram no solo se liguem aos cátions de cálcio e magnésio remanescentes, formando $CaCO_3$ e $MgCO_3$. Isso faz com que o Ca^{2+} e Mg^{2+} percam seus estados de sais solúveis e se preciptem no solo, se tornando ainda menos disponíveis (PEREIRA, 1983; ZAMAN, SHAHID & HENG, 2018).

Isso abre espaço para que o Na^+ tenha mais colóides carregadas negativamente para ele se ligar, e consequentemente, todas as características daquele solo vão modificando. Por isso a aptidão das águas de irrigação, também está ligada ao CSR, que é calculado a partir da equação $CSR = (CO_3^{2-} + HCO_3^-) – (Ca^{2+} + Mg^{2+})$ e os seus resultados são expressos mEq/L. Wilcox, Blayer e Bower (1954), chegaram a conclusão de que águas com CRS menores que 1,25 são seguras para a rega, águas com CRS entre 1,25 e 2,50 estão em seus faixas marginais e águas com CRS acima de 2,5 são impróprias para a irrigação.

Logo, a água de irrigação que será adicionada no solo, é um fator que a agricultura precisa dar muita atenção. Caso o contrário, esta degradação só tende a aumentar as consequências negativas aos solos, que antes eram saudáveis, e agora paulatinamente estão adoecidos, devido a sua diminuição de porosidade, condutividade hidráulica e aeração. Além da perda do seu microbioma e da diminuição da capacidade dessa terra ser utilizada para o cultivo (SAHAB, 2021).

3.2. O EFEITO DA SALINIDADE NAS PLANTAS

A saúde do solo é um fator muito importante para o desenvolvimento das plantas. O solo que possui condições equilibradas de nutrientes, umidade, energia e um microbioma rico, consegue oferecer condições necessárias para que o reino vegetal consiga viver e se desenvolver bem. Porém, quando este solo é afetado pela salinidade, todos seus fatores físico-químicos e biológicas são alterados, podendo gerar dificuldade para o desenvolvimento das plantas, principalmente as mais sensíveis (TAIZ & ZEIGER, 2013; KUMAR *et al.*, 2020).

Em busca de soluções, alguns agricultores fazem a adição de fertilizantes inôrganicos, afim de reconstituir a fertilidade desses solos, porém muitas vezes por desconhecimento, não imaginam que isso pode piorar ainda mais sua qualidade. Esse excesso de sais minerais, causam efeitos citotóxicos, além de gerarem estresse osmótico, oxidativo e hídrico para as plantas

(DIAS, *et al.* 2016).

3.2.1. O efeito da salinidade na germinação

A interferência da salinidade no potencial hídrico do solo, causa a redução da capacidade de captação de água pelas sementes, devido a diminuição do gradiente de potencial entre o solo e aquelas, consequentemente reduzindo os índices de germinação (LOPES & MACEDO, 2008). A germinação é um processo compreendido por três fases, que tem início quando a semente está em repouso e tem sua fase final com a emissão da radícula. Ela é dividida pela fase 1, onde as sementes têm uma rápida absorção de água (embebição), fase 2, onde acontece a ativação dos processos metabólicos necessários para o desenvolvimento do embrião e fase 3, quando acontece o crescimento do embrião, a partir da emissão da radícula (BEWLEY, 1997; NICK, SILVA e BORÉM, 2018).

Em alguns trabalhos como de Souza *et al.* (2010), Marques *et al.* (2011) e Sousa, Bezerra e Farias (2011) foram demonstrados os efeitos negativos dos sais sobre a germinação de sementes. Nesse contexto, Souza *et al.* (2010), observaram que as sementes do Pinhão Manso (*Jatropha curcas* L.), quando dispostas a diversas concentrações salinas, sofreram um atraso significativo no tempo de germinação, além de terem sofrido com a diminuição do crescimento das plântulas. No estudo realizado por Maia Júnior *et al.* (2020) com sementes de tomateiro induzidas ao estresse salino, foi constatado que a salinidade reduziu a porcentagem de germinação, além de atrasar o tempo da germinação das sementes de tomate.

Essa redução na taxa de germinação das sementes, tem relação com a diminuição da absorção da água pela plântula devido ao aumento do potencial osmótico do solo, que aumenta a retenção da água e faz com que as plantas precisem gastar mais energia para conseguir absorvê-la. Logo, principalmente nesta fase inicial de embebição, a salinidade interfere na absorção de água, inviabilizando, em seguida, todas as demais fases que levam à germinação (MOTERLE *et al.*, 2006).

3.2.2. O efeito da salinidade no desenvolvimento das plantas

Quando as plantas conseguem vencer as três fases da germinação, elas passam para uma fase de desenvolvimento e crescimento. Neste momento a salinidade ainda influencia na vida do vegetal, por isso é um tema estudado em diversos países, especialmente nos que possuem solos áridos e semiáridos (RIBEIRO, BARROS & FREIRE, 2019; SAHAB, *et al.* 2021).

Os autores Ferreira *et al.* (2001) e Cavalcante *et al.* (2010), afirmam por meio de seus trabalhos que o estresse salino reduz o desenvolvimento de uma planta, devido a desordens

nutricionais causada pela elevada quantidade de sais no processo de absorção e transporte de nutrientes.

A salinidade pode reduzir a ação dos íons em solução, mudando assim a absorção, transporte, assimilação e disposição de nutrientes na planta (LARCHER, 2000; FARIAS *et al.* 2009). Segundo Ferreira *et al.* (2001) um fator de fácil percepção em relação à salinidade sobre vegetais é a diminuição no seu crescimento, devido à menor disponibilidade de nutrientes, o que afeta principalmente na produção da cultura. No trabalho de Cavalcante *et al.* (2010), por exemplo, o efeito do estresse salino nas plantas resultou na toxidade iônica, por causa das interações entre Na^{+}/K^{+}, Na^{+}/Ca^{+2} e Cl^{-}/NO^{-3}, o que levou a diminuição do crescimento ou morte dessas plantas, devido ao excesso de íons sódio e cloro.

Outros efeitos causados pela salinidade nas plantas encontrados na literatura são a redução do crescimento radicular e área foliar, levando a redução da fotossíntese (NASCIMENTO *et al*., 2011), amarelamento das folhas mais antigas e queda em fases mais avançadas (MELLONI, SILVA & CARVALHO, 2000), além do retardo na fase de desenvolvimento de gemas apicais e redução da quantidade de folhas (OLIVEIRA, *et al.* 2006).

3.2.3. A tolerância de diferentes vegetais à salinidade

Algumas plantas possuem meios que possibilitam a sua manutenção em ambientes salinizados, onde a sua permanência nesses ambientes acarreta mudanças e adaptações em relação a absorção, transporte e disposição de íons em diversas partes do vegetal (FARIAS *et al.*, 2009). A tolerância das plantas à salinidade pode ser separada de duas formas: o grupo das halófitas, sendo as presentes em solos salinizados e o grupo das glicófitas, as plantas que possuem menos resistência ao estresse salino (TAIZ & ZEIGER, 2013).

As plantas halófitas possuem essa maior resistência em virtude da sua capacidade de dividir os íons em pequenas partes no vacúolo das células vegetais. Essa habilidade evita que altas concentrações de sal vinda do solo, chegue ao protoplasma e a partir dessa regulação salina a planta consegue sobreviver aos efeitos osmóticos e tóxicos relacionados a maior disponibilidade de sais no ambiente (LARCHER, 2000). Já as plantas glicófitas, em contato com solos salinizados, apresentam efeitos como diminuição em seu desenvolvimento, perda da massa seca e descoloração nas folhas (MUNNS, 2002).

Existem meios de classificação que podem medir a tolerância relativa de algumas espécies de planta. Eles se baseiam na relação entre a salinidade do solo, a partir da condutividade elétrica do extrato de saturação (CE_{es}) e da condutividade elétrica da água (CE_{a}), a partir da equação ($CE_{es} = 1{,}5CE_{a}$) e também a partir da fração de lixiviação equivalente a 15-

20%. Nessa forma de classificação, as plantas são divididas como sensíveis à salinidade (S), moderadamente sensíveis (MS), moderadamente tolerantes (MT) e tolerantes (T). No Quadro 1 é possível observar, a tolerância à salinidade de algumas espécies herbáceas, em relação aos níveis de condutividade elétrica ao qual elas foram expostas (DIAS *et al*., 2016).

Quadro 1: Tolerância das culturas herbáceas à salinidade. As siglas S, MS, T e ST indicam respectivamente Sensíveis ao sal, Moderadamente Sensíveis; Moderadamente Tolerantes; Tolerantes.

Cultura	**Nome Científico**	**Condutividade Elétrica (dS/m)**	**Classificação de Tolerância**
Cenoura	*Daucus carota*	1,0	S
Feijão	*Phaseolus vulgaris*	1,0	S
Fava	*Vicia Faba*	1,6	MS
Alfafa	*Medica sativa*	2,0	MS
Espinafre	*Spinacia olaracea*	2,0	MS
Tomate	*Solanum lycopersicum* L.	2,5	MS
Soja	*Glycine max*	5,0	MT
Trigo	*Triticum aestivum*	6,0	MT
Capim-bermuda	*Cynodon*	6,9	T
Algodão	*Gossypium hirsutum*	7,7	T
Cevada	*Hordeum vulgare*	8,0	T

Fonte: DIAS, *et al.* 2016; SAHAB, *et. al* 2021.

3.3. TOMATEIRO (*Solanum lycopersicon L*.)

O tomateiro (*Solanum lycopersicon L*.) é a segunda hortaliça mais produzida no Brasil. Tendo em 2017 ocupado mais de 60 mil hectares de área plantada, com uma produção de 4.223,9 toneladas e rendimento médio de 67,9 toneladas por hectares (IBGE/LSPA, 2017).

Pertencente à família das solanáceas com distribuição cosmopolita, de porte ereto e ciclo anual. Apesar de ser uma espécie inicialmente domesticada no México, apresenta seu ponto central no território dos Andes, sendo até hoje encontrada diversas espécies em seus aspectos ancestrais, especialmente o tomate cereja (*Licopersicon pimpinellifolium L*.), sendo tido por diversos autores, como a espécie primitiva com os aspectos genéticos (genótipo) mais próximos das plantadas na atualidade (NAIKA *et al*., 2006; RODRIGUES *et al*., 2008). Essa espécie de tomateiro é a mais utilizada para consumo, devido as suas características fotoquímicas, com uma propriedade antioxidante das mais adequadas para ingestão e uma grande quantidade de nutrientes também (GUILHERME *et al*., 2008).

O crescimento e desenvolvimento do tomateiro necessitam de algumas condições

adequadas, como a incidência de radiação solar mínima de 12 horas, temperatura ótima de 27 °C, demanda ótima de água de 1300 mm por ano, onde esses fatores interagem e agem em conjunto para um melhor resultado (ROCHA, 2009; EOL, 2020). Porém, quando essa espécie entra em contato com estresses abióticos, como seca, elevadas temperaturas e salinidade, ou com estresses bióticos, como o ataque de patógenos, diversas característas que indicam o seu crescimento e saúde são afetadas (MURPHY *et al.*, 2003; GOWTHAM *et al.*, 2020; KHAN *et al.*, 2020; VAISHNAV *et al.* 2020).

Gowtham *et al.* (2020) estudaram como os tomateiros reagiram a diferentes níveis de seca, testando o crescimento das plantas que eram regadas em dias alternados e das plantas que ficavam 2, 3, 4 e 5 dias sem receberem água. Ao observar seus resultados é possível perceber como a seca alterou a qualidade de vida dos tomateiros. Ao comparar as plantas que eram irrigadas em dias alternados e as plantas que ficavam 5 dias sem receberem água, foi possível perceber diferenças na altura, massa fresca da parte aérea, no conteúdo relativo de água, tendo todos esses valores sido menores nas amostras que passaram por ciclos de 5 dias de seca. Já alguns parâmetros bioquímicos aumentaram, como conteúdo de malondialdeído (MDA) que indica os danos nas membranas, o conteúdo de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2), que indica estresse oxidativo e conteúdo de prolina, que demonstra uma estratégia de defesa para as plantas se osmoprotegerem do estresse.

Um padrão semelhante ocorreu no trabalho de Khan *et al.* (2020), ao estudar como foi o crescimento dos tomateiro em diferentes temperaturas. Ele expôs os tomateiros controles a temperaturas diárias de 28 °C por 14 horas e 25 °C por 10 horas, e os tomateiros estressados a temperaturas de 37 °C por 14 horas e 30 °C por 10 horas, ambos com umidade relativa de 60 a 70%. Ao observar os seus resultados foi possível perceber que temperatura influenciou na diminuição das características morfológicas, como no comprimento, peso fresco e peso seco das partes aérea e raízes. E que aumentou características bioquimicas, como o conteúdo de MDA (devido as plantas terem sofrido maior peroxidação lipídica), a atividade das enzimas antioxidantes Superóxido Desmutase (SOD) e Ascorbato Peroxidase (APX) (como uma estratégia de defesa da planta para combater as espécies reativas de oxigênio (EROs) que se formaram devido ao estresse) e os níveis de prolina, como uma estratégia para as plantas conseguirem perder menos água devido a esses estresses.

As mesmas características morfológicas e bioquímicas foram observadas no trabalho de Vaishnav *et al.* (2020), quando expôs os tomateiros a 200 mM de NaCl. Além dos parâmetros já citados no parágrafo anterior, também foi possível observar a diminuição dos níveis de clorofila e um desequilíbrio iônico na relação Na^+/K^+, onde o sódio se tornou muito mais

presente, reduzindo a presença dos íons de potássio nas folhas e raízes.

Por fim, no trabalho de Murphy *et al.* (2003) os tomateiros foram expostos a um estresse biótico, a partir da infecção do *Cucumber Mosais Virus*, neste trabaho as amostras infectadas com vírus, demonstraram poucas diferenças morfológicas para aquelas não infectadas. Porém, foi possível observar que as plantas não infectadas tiveram sua massa úmida significativamente maior do que as infectadas pelo vírus, demonstrando uma ação negativa dessa doença ao tomateiro.

Todos esses estudos têm em comum o tomateiro, e demonstram a sua sensibilidade para os estresses bióticos e abióticos, mas além do *Solanum lycopersycum* L., o que mais esses estudos apresentam, são as ações das Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal. Em todos eles as BPCVs, contribuiram no crescimento do tomateiro, além de terem o ajudado a desenvolver mecanismos de proteção contra as altas temperaturas (KHAN *et al.,* 2020), o excesso de sais (VAISHNAV *et al*., 2020), a seca (GOWTHAM *et al.*, 2020) e o ataque de patógenos, a patir do controle biológioco (MURPHY *et al.,* 2003).

São essas bactérias que trazem um tópico bastante importante para o presente trabalho, devido a sua atuação no crescimento das plantas e mais especificamente em como uma dessas espécies (*Bacillus amyloliquefaciens* VR002) atuam na promoção da halotolerância dos tomateiros.

3.4. BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL

As Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCVs) são bactérias livres disponíveis no solo que podem auxiliar de forma direta ou indireta o enraizamento de plantas (OMER *et al*., 2004) e o seu crescimento (KUMAR *et al*., 2020). Elas possuem mecanismos de ação, classificados como diretos que ocorrem no interior da planta e indiretos que ocorrem na parte externa da planta (BIRCH & KAMOUN, 2000).

Em relação aos mecanismos de ação direta, a Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN), é a fonte mais importante para a transformação do nitrogênio atmosférico (N_2) em formas biodisponíveis para os sistemas orgânicos (OBERSON *et al*., 2013). Podemos destacar duas categorias principais de cepas bacterianas diazotróficas: as bactérias endossimbióticas, que realizam associação direta com as plantas, gerando nódulos em suas raízes, como por exemplo, as bactérias *Rhizobium spp.* e a segunda categoria são as bactérias de vida livre fixadoras de nitrogênio, estando presentes próximas aos tecidos da raiz, sem realizar a invasão dos mesmos. Ambas possuem como característica a realização da fixação do nitrogênio atmosférico (N_2), através da ação da enzima nitrogenase, que transforma o N_2 em gás amônia (NH_3) e

posteriormente, quando em contato com substrato aquoso, no íon amônio (NH_4^+). Esses compostos nitrogenados absorvidos pela planta são convertidos em aminoácidos fornecendo assim nutrientes com base de nitrogênio para as plantas (MERRICK, 2004; FAGAN *et al.*, 2007; SANTI *et al*., 2013).

Outro mecanismo direto é a solubilização de fosfato, onde esse nutriente se apresenta como o segundo maior fator limitante para o crescimento vegetal depois do nitrogênio. A maior reserva de fósforo se encontra na forma insolúvel do solo, impossibilitando a sua utilização pelas plantas que só conseguem utilizá-lo em duas formas básicas solúveis, a monobásica e a dibásica (JHA & SARAF, 2015). Sendo assim as BPCVs possuem a função de solubilizar esse mineral, fazendo com que ele fique disponível para a utilização das plantas, sendo uma vantagem em comparação aos vegetais que não possuem essa microbiota (OTEINO *et al*., 2015; DE SOUZA *et al*., 2015). Os gêneros bacterianos mais importantes que realizam essa característica de solubilizar fosfato são *Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Beijerinckia, Burkholderia, Enterobacter, Erwinia, Flavobacterium, Microbacterium, Pseudomonas, Rhizobium* e *Serratia* (MEHNAZ & LAZAROVITS, 2006).

A produção de fitormônios também é um mecanismo de ação direta que desenvolve o papel de regular padrões relacionados ao desenvolvimento, divisão celular e prolongamento da raiz (GLICK, 2014; KUMAR *et al*., 2020). Os fitormônios fundamentais são a auxina, giberelina e a citocinina. A auxina, ácido indole-3-acético (AIA) é um dos hormônios vegetais mais gerados pelas BPCVs, tendo uma área de estudo grande. Estando diretamente ligada as relações plantas-microrganismos, favorecendo o crescimento vegetal, principalmente das suas raízes (AHEMAD & KIBRET, 2014; AFZAL *et al*., 2015). Outra função da auxina é atuar na regulação da dormência e germinação de sementes (LIU *et al*., 2013; SHU *et al*., 2016).

A giberelina, pertencente a um amplo grupo de hormônios, com aproximadamente 120 moléculas distintas, onde quatro delas são sintetizados por bactérias (GA1, GA2, GA3 e GA20), tem seu deslocamento da raiz até a parte aérea do vegetal, onde em conjunto com a produção de auxina pelas BPCVs demonstram efeitos consideráveis às plantas (WONG *et al*., 2015).

A citocinina vai proporcionar e realizar a manutenção da divisão celular das plantas, estando ligada a várias fases como a formação de brotos e da parte primária do crescimento da raiz. Os gêneros ligados a produção desse hormônio são *Azospirillum, Bacillus, Klebsiella, Escherichia, Pseudomonas, Proteus* e *Xanthomonas* (MAHESHWARI *et al*., 2015).

O etileno é um hormônio ligado a diferentes funções relacionadas às plantas como a germinação das sementes, desenvolvimento da raiz, amadurecimento dos frutos e senescência (VANDENBUSSCHE & VAN DER STRAETEN, 2012). Porém, este hormônio aumenta

quando a planta entra em contato com diferentes tipos de estresse, como bióticos (ataque por patógenos) e abióticos (hipoxia, seca, frio e salinidade). Logo, uma estratégia que as BPCVs realizam para regular o aumento deste hormônio é através da produção da enzima ACC deaminase, que consegue quebrar a molécula precursora do etileno (ácido 1-aminociclopropano-1carboxílico ACC) em amônia e alpha-cetobutirato (MAYAK, TIROSH & GLICK, 2004; YANG *et al*., 2009; TAIZ & ZEIGER, 2013; WANG *et al*., 2013; TAO *et al*., 2015; BACKER *et al*., 2018).

Outra forma de atuação direta das BPCVs, é a produção de sideróforos, que são capazes de solubilizar o ferro, assim possibilitando a absorção deste elemento pelas bactérias e plantas (SHEN *et al*., 2013).

Já em relação aos mecanismos de ação indireta, estes estão ligados principalmente ao controle biológico. A produção de sideróforos também atua de forma indireta impedindo o crescimento de outros microrganismos. A pioverdina, por exemplo, é um sideróforo produzido pelo gênero *Pseudomonas spp.* que possuí ação antibiótica, por meio, da limitação da disponibilidade do ferro para os microrganismos patógenos, sendo uma forma de defesa ao estresse biótico (SHEN *et al*., 2013).

Outro mecanismo indireto que as BPCVs realizam na parte externa da planta é a produção de quitina e glucona, enzimas lipídicas que atuam na degradação da parede celular de patógenos fúngicos, onde os gêneros que produzem essas substâncias são *Bacillus* e *Pseudomonas* (KOBAYASHI *et al*., 2002; HAAS & DEFAGO, 2005). Além disso, para produção de antibióticos, as BPCVs principalmente dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* produzem substâncias que vão colonizar a rizosfera, inibindo a permanência de outras bactérias e fungos que seriam prejudiciais à planta (LUGTENBERG & KAMILOVA, 2009; KUSHWAHA *et al*. 2020; ABREU, 2021). E por fim, a produção de cianeto de hidrogênio (HCN), onde o cianeto auxilia principalmente no biocontrole, reduzindo o crescimento de ervas daninhas (DEVI *et al*., 2007).

Logo, sendo relevantes os resultados apontados com o uso de BPCVs, essas bactérias se apresentam como alternativa para a diminuição do uso de agroquímicos e fertilizantes, e para o cultivo e produção de plantas em solos considerados pobres para cultivo, sendo eles degradados ou contaminados (DE-BASHAN *et al*., 2012; AHEMAD & KIBRET, 2014). Com isso, as BPCVs são uma importante opção ecológica para a promoção do crescimento vegetal, principalmente em solos submetidos a estresse, fornecendo assim subsídio para a prática da agricultura sustentável.

De modo geral, a utilização de BPCVs na agricultura sustentável se mostra como um fator importante, quando utilizadas na promoção do crescimento e resistência de plantas a estresses como o caso da salinidade do solo. Alguns gêneros, já foram estudados e testados em relação a esses resultados com o intuito de testar a sua funcionalidade, como por exemplo, o gênero *Bacillus spp*., detalhado a seguir.

3.5. GÊNERO *Bacillus*

Uma grande quantidade de microrganismos pode ser encontrada no solo, por conta da grande quantidade de nutrientes presentes nele. Dentre os gêneros encontrados, podemos destacar os *Bacillus* sendo os mais comuns no ambiente terrestre, estando principalmente associados com plantas (TEJERA-HERNÁNDEZ *et al*., 2011), tendo um papel favorável ao desenvolvimento por meio de um conjunto de métodos que promovem o crescimento da planta (FIGUEIREDO *et al*., 2008) e controle biológico de patógenos (HAN, *et al*., 2005).

As bactérias pertencentes ao gênero *Bacillus* possuem uma morfologia de bastonetes, são Gram-positivas, com habilidade de produzir biofilmes e endósporos e aeróbico, e diversas funções ecológicas, entre elas, estão o aumento da resistência da planta a estresse salino e a patógenos (MARTINS *et al*., 2015; RAZA *et al*., 2016). Espécie do gênero quando ligadas a promoção do desenvolvimento vegetal, possuem habilidade de produzir hormônios, absorver ou solubilizar nutrientes e fornecer resistência a fitopatógenos (WU *et al*., 2015; GUPTA *et al*., 2016; XU *et al*., 2016).

Os *Bacillus* abrangem um grupo com mais de 100 espécies filogenéticas (LPSN, s.d.) e com o fenótipo heterogêneo, compreendido por microrganismos bacilares Gram positivos, produtores de endósporos resistentes a fatores físicos e químicos nocivos. Esse grupo possui uma grande diversidade fisiológica, tendo como características a degradação de substratos provenientes da flora e fauna, abrangendo celulose, pectina, ágar, proteínas, entre outros. Outras habilidades que esse gênero possui é a fixação de nitrogênio, nitrificação, desnitrificação, termofilia e alcalofilia (OOI *et al*., 2008; TEJERA-HERNÁNDEZ *et al*., 2011). Além disso, essas bactérias geram benefícios como aumento do potencial de emergência e germinação de plântulas, produção de hormônios vegetais de suma importância para o desenvolvimento vegetal, como por exemplo a auxina, giberelinas e ácidos láticos succínio (MARQUES, 2014; CERQUEIRA *et al*., 2015).

Eles possuem um ciclo de vida de duas etapas, sendo uma do crescimento vegetativo e outra a fase da esporulação. No decorrer da primeira fase as bactérias aumentam de quantidade de forma exponencial quando em contato com condições benéficas. Com a diminuição da

demanda de nutrientes as bactérias formam endósporos, que vão permanecer durante um grande período, até as situações se tornarem favoráveis novamente (TEJERA- HERNÁNDEZ *et al*., 2011).

A partir dessas informações pode-se afirmar que cepas de *Bacillus spp*., se mostram como favoráveis para o desenvolvimento da agricultura sustentável em regiões que possuem diversos tipos de estresse, como o caso do estresse salino do solo. As espécies mais estudadas com essas funções são *Bacillus pumillus, Bacillus subtilis, Bacillus firmus* e *Bacillus amyloliquefaciens* (GUPTA *et al.*, 2016), sendo a última o objeto do presente estudo.

3.5.1. *Bacillus amyloliquefaciens*

O *Bacillus amyloliquefaciens* é uma espécie de bactéria cosmopolita, sendo encontrado nos solos, estando localizado naturalmente na região da rizosfera, tendo uma associação direta com a manutenção e proteção das plantas, gerando o seu crescimento em situações adversas. Essa espécie é conhecida como a primeira cepa de bactérias promotoras de crescimento vegetal gram-positivas a possuir o seu genoma inteiramente sequenciado (FAN *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2013). *B. amyloliquefaciens* está ligada a produção de diversos antibióticos antibacterianos e antifúngicos (ABREU, 2021), como surfactina, iturina e fengicina (CHEN *et al.*, 2009).

Um estudo na área da agricultura orgânica com o intuito de promover a produção de mudas de qualidade, apresentou resultados positivos em condições de estímulo de crescimento vegetal com a utilização de *Bacillus amyloliquefaciens*, exibindo um acréscimo na área foliar de culturas de tomateiro em aproximadamente 31,6% (SZILAGYI-ZECCHIN *et al*., 2015). Em outros estudos realizados com bactérias do gênero, como o trabalho realizado por Upadhyay e Singh (2015) com a inoculação da bactéria *Bacillus aquimarise* e *Bacillus subtilis* na planta do trigo foi constatado alguns resultados favoráveis sendo eles: após um período de 60 e 90 dias de plantio das mudas inoculadas com o *Bacillus aquimarine* foram observados um maior acúmulo de prolina e açúcar solúvel nas plantas nos primeiros 60 dias de plantio, onde esse aumento no teor de prolina favorece a manutenção do potencial osmótico das células vegetais, proporcionando o aumento da tolerância das plantas ao déficit hídrico. A porcentagem de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) apresentaram uma maior proporção nas mudas inoculadas com os *Bacillus aquimarine* do que nas mudas não inoculadas. Na inoculação realizada com *Bacillus subtilis* foi observada uma diminuição no teor de sódio (Na) nas folhas das mudas de trigo de aproximadamente 23% em um período de 60 e 90 dias após o plantio (UPADHYAY & SINGH, 2015).

A utilização comercial de *Bacillus amyloliquefaciens* na promoção do crescimento de plantas já é uma realidade em alguns países como Alemanha, Dinamarca e Estados Unidos, utilizando-se os produtos Rhizovital®, Taegro® e Quickroots®, respectivamente (CHOWDHURY *et al*., 2013; MONSANTO, 2015). Na Europa já foi encontrado a cepa *B. amyloliquefaciens* FZB42 sendo utilizada em 2 produtos comerciais, nas formas de pó e líquido, para serem aplicados em solos e sementes (SZILAGYI-ZECCHIN, 2016).

Na legislação brasileira, as BPCVs se encaixam na categoria de inoculantes agrícolas (BRASIL, 2004). Porém, nos anexos II e III da Instrução Normativa nº 13 de 24/03/2011 - da Secretaria de Defesa Agropecuária, vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SDA/MAPA) - não existem autorizações, nem recomendações para o uso de *Bacillus amyloliquefaciens* como BPCV (BRASIL, 2011).

Em um estudo realizado por Kim *et al*., (2017), com soja colocada sob elevada concentração de NaCl (100 mM), foi constatado que um isolado bacteriano de *Bacillus amyloliquefaciens*, levou a uma maior resistência da planta ao estresse abiótico, essa resistência tem uma ligação direta com a maior atividade do ácido abscísico, que auxilia a diminuir os efeitos da salinidade e consequentemente o crescimento vegetal, assim como acontece em relação a giberelina e ácido jasmônico.

Em um experimento realizado por Irizarry e White (2017), foi constatado que mudas de algodão (*Gossypium hirsutum*) expostas ao estresse salino, quando receberam tratamento com *Bacillus amyloliquefaciens* atingiram maior desenvolvimento e crescimento radicular em comparação com as plantas que não receberam tratamento com essa bactéria, o trabalho constatou que o algodão conseguiu preservar o desempenho da absorção de água e nutrientes e por conseguinte o seu crescimento. Além disso, nesse estudo também foi observado que aos 10 dias após o plantio do algodão, a altura do rebento das mudas inoculadas com *Bacillus amyloliquefaciens* foram maiores do que as não inoculadas. Foi observado também que a altura da parte aérea das mudas inoculadas foi maior que as não inoculadas quando expostas ao estresse salino, porém o tamanho da planta não obteve um desenvolvimento considerável depois dos 10 dias de crescimento da muda de algodão.

Foram observadas diferenças nas mudas aos 7 dias de desenvolvimento com e sem estresse salino, colocadas ou não sobre inoculação com as bactérias *Bacillus amyloliquefaciens*. O tamanho das radículas das mudas inoculadas com a bactéria obteve um crescimento duas vezes maior que as mudas sem inoculação, apresentando uma área total maior. A quantidade de pontas nas radículas das mudas de algodão inoculadas com o *Bacillus amyloliquefaciens* e

submetidas ao estresse salino foi de mais de 96% em comparação com as mudas não inoculadas com as bactérias (IRIZARRY & WHITE, 2017).

Em Szilagyi-Zecchin *et al.* (2014) foi verificado a resposta relacionada a inoculação de sementes de mudas orgânicas de duas cultivares de tomateiro (‘Santa Clara I-5300’ e ‘Cereja 261’) com o intuito de verificar o crescimento vegetal, a partir da dose de $1x10^{11}$ UFC/mL (20% de FZB42; 80% de FZB42 e Testemunha com 100% de água destilada) da bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 na porção de 320 µL/g de sementes. Onde se constatou que a porcentagem de FZB42 a 20% das bactérias nas mudas das cultivares de “cerejeira” e “Santa Clara” apresentaram maior crescimento da parte aérea, ao contrário da concentração de FZB42 a 80% e a testemunha que apresentaram valores bem menores. Em relação à concentração de clorofila *a*, *b* e totais ambas as porcentagens aumentaram os teores nas plântulas, além da produção de sideróforos e indólitos.

Já no estudo de Szilagyi-Zecchin (2016), realizado com tomateiro em cultivo orgânico, com sementes inoculadas com *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42, objetivando verificar os resultados na germinação, produção e crescimento de plantas em diferentes doses bacterianas ($1,5x10^{9}$; $6,0x10^{10}$; $2,4x10^{11}$ bactérias mL^{-1}) foi constatado o aumento na demanda de sideróforos e aumento da produção de frutos em todas as doses. Porém a dose $6,0x10^{10}$ bactérias mL^{-1} foi a que apresentou uma melhor resposta em relação a promoção do crescimento vegetal, no decorrer de todo o ciclo de vida da planta, sendo considerada com grande potencial bio-fertilizante e bioinoculante, como mudanças favoráveis na parte metabólica e nutricional do vegetal.

Com isso, estudos que testam o uso de *Bacillus amyloliquefaciens* na agricultura vêm ganhando visibilidade e se mostram como alternativa para o manejo de solos submetido a diversos tipos de estresse, sejam eles bióticos e abióticos, além da promoção do crescimento vegetal. A partir disso, a utilização dessas bactérias em conjunto com as práticas de manejos convencionais se mostra como uma alternativa para o uso de agrotóxicos e consequentemente seu alto custo para a produção. Além disso, irá fornecer subsídio para uma maior resistência vegetal em algumas culturas, aumentando assim consequentemente a sua produtividade.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia, da Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda (EEIMVR), pertencente à Universidade Federal Fluminense (UFF).

4.2. CULTIVO DAS COLÔNIAS DE BACTÉRIAS

O microrganismo utilizado foi a bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* VR002, pertencente ao acervo de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal Fluminense.

Esta cepa foi isolada em laboratório a partir de amostras de solo coletadas nos jardins da EEIMVR. Ela apresentou 100% de homologia com o gene 16S do RNA ribossômico (rRNA) da espécie *Bacillus amyloliquefaciens*, podendo assim ser identificado a sua espécie e denominado o nome da cepa como *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 (CHAVES *et al.*, 2020).

A cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 foi cultivada em meio de cultura caldo nutriente (Extrato de carne - 3,0; Peptona - 5,0 (g/L)), seguindo os padrões de esterilidade necessários. O seu crescimento aconteceu em incubadora agitadora sob temperaturas de 35 °C, a 150 rpm, durante 24 h. Posteriormente, alíquotas de 10 μL foram repicadas em placas de petri contendo meio ágar nutriente e crescidas em incubadora a 35 °C por 24 h. As placas foram mantidas sob refrigeração para serem utilizadas como cultura estoque para as próximas análises.

A cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 foi selecionada para o presente trabalho, em razão dos muitos estudos já realizados com outras cepas da mesma espécie que demonstraram a eficiência deste microrganismo na promoção do crescimento vegetal como em Szilagyi-Zecchin (2016) e Diaz (2018). Além disso, os trabalhos de Nautiyal *et al.* (2013) e Wang *et al.* (2019) demonstraram a capacidade de isolados da mesma espécie na tolerância de estresses abióticos, como a seca e a salinidade, respectivamente. E por fim, pela cepa VR002 ter demonstrado características interessantes no controle biológico de quatro fungos toxigênicos, o que já lhe confere um dos atributos de BPCVs, que é o de promover resistência às plantas contra os fitopatógenos, como foi estudado por Abreu (2021).

4.2.1. Efeito de diferentes concentrações de NaCl sobre o crescimento de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002

Para verificar o efeito da salinidade sobre o crescimento de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002, o microrganismo foi cultivado em frascos erlenmeyers de 250 mL, contendo caldo nutriente adicionado de cloreto de sódio (NaCl), nas concentrações de 0, 250, 500, 1000, 1500 mM. Para cada concentração foram preparadas triplicatas. Os erlenmeyers foram tampados com rolhas de algodão e em seguida levados para autoclave a 121 °C por 15 minutos para serem esterelizados.

Após resfriamento, os 3 erlenmeyers iniciais foram levados para a Cabine de Segurança Biológica (Pachane – modelo PA 420), e foram adicionado a eles alçadas do estoque de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 para inoculação dos caldos nutrientes. Em seguida, os frasco foram levados para a incubadora *shaker* (Tecnal TE-424), com controle de temperatura e agitação e ajustadas para 35 °C e 150 rpm durante 24 h (CHAVES *et al.*, 2020).

Posteriormente, o volume dos três erlenmeyers foi transferido para uma nova vidraria estéril e homogeneizados. 3 mL do erlenmeyr resultante foram coletados para aferição do crescimento das colônias, a partir da sua absorbância nas unidades de medida de Densidade Óptica por mililitro (DO/mL) no espectrofotômetro Shimadzu UV-1800. Em seguida, calculou-se o volume do inóculo necessário para ser transferido para cada um dos 15 erlenmeyers do experimento, para que eles começassem com a concentração inicial de 10^7 células por mL (0,1 DO/mL).

Com todos os erlenmeyers com a mesma quantidade de células, marcou-se o tempo 0 h e em seguida aliquotas foram colhidas em intervalos de 6, 12, 24, 30, 36 e 48 h para aferição do crescimento ao longo do tempo, a partir de medições da absorbância no espectrofotômetro, com comprimento de onda ajustado para 600 nm. Com estes resultados foi eleborado a curva de crescimento da VR002 nas diferentes concentrações salinas.

4.3. EFEITO DE INOCULAÇÃO DA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 OU DO SOBRENADANTE DA CULTURA BACTERIANA NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE TOMATEIRO CULTIVAR SANTA CRUZ EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NaCl

Para verificar o efeito da inoculação da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 na germinação de sementes de tomateiro cultivar Santa Cruz, sob diferentes concentrações salinas,

seguiu-se a metodologia proposta por Nautiyal *et al.* (2013), com algumas modificações. As sementes de tomateiro da cultivar Santa Cruz, foram obtidas no comércio local (sementes da marca ISLA), com indicação de 86% de porcentagem de germinação no seu rótulo.

Em seguida foram pesadas três parcelas, cada uma com aproximadamente 240 sementes, a fim de representarem os tratamentos sem inoculação, com inoculação de 0,5 DO/mL da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 e com o sobrenadante da cultura de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002. As sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (2%) por 5 minutos e posteriormente lavadas com água destilada, por cinco vezes. Após desinfestadas, cada parcela recebeu o tratamento apropriado e em seguida as sementes foram dispostas em placas de petri contendo meio de cultura ágar-água, e as concentrações de 0, 50, 100 e 150 mM de NaCl. Cada placa de petri recebeu dez sementes e o experimento foi conduzido com cinco repetições para cada tratamento x dose.

Para o preparo dos inoculantes, seguiu-se metodologia conforme descrita no tópico 4.2.1 - "Efeito de diferentes concentrações de NaCl sobre o crescimento de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002". Frascos contendo caldo nutriente foram inoculados com uma alçada da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 e cultivados a 35 °C e 150 rpm, durante 24h. Após o crescimento, 25 mL da cultura bacteriana foram transferidos para tubos e centrifugados a 4 ºC, por 20 minutos a 3500 rpm em centrifuga CT-6000R. Após a centrifugação, sobrenadante e *pellet* foram separados para serem utilizados na inoculação das sementes de tomateiro cultivar Santa Cruz.

O sobrenadante foi armazenado em recipiente estéril para futuramente ser utilizado na inoculação das sementes. Já o *pellet* foi ressuspendido em 25 mL de água destilada estéril, homogeneizado e levado novamente para a centrifuga programada nas mesmas condições. Este procedimento foi realizado para lavar as células da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002.

Após lavagem, o sobrenadante resultante desta centrifugação foi descartado e o *pellet* foi novamente ressuspendido e homogeneizado em 25 mL de H_2O destilada estéril. A absorbância desta solução foi ajustada para preparar um inóculo padrão com 0,5 DO/mL da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002, conforme metodologia adaptada de AHMAD *et al.* (2013). Este inóculo foi armazenado em recipiente estéril e utilizado logo em seguida.

Foram transferidos 150 mL dos três tratamentos preparados (água destilada estéril, 0,5 DO/ml da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 e sobrenadante da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002), para frasco erlenmeyer de 250 mL estéril, cada um com o aporte das 240 sementes. Os frascos foram mantidos sob agitação de 165 rpm a 25 °C durante 1 h.

Posteriormente, 10 sementes de cada tratamento foram transferidas para placas de petri contendo meio de cultura ágar-água contendo NaCl nas concentrações de 0, 50 100 e 150 mM. As placas de petri, com as sementes, foram então postas em incubadora tipo BOD (SL 200/364 da marca Solab) a 25°C, com fotoperíodo de 12h. A contagem das sementes germinadas foi realizada a cada 24h ao longo dos 7 dias, a fim de se calcular o Índice de Velocidade de Germinação. Os dados do 7° dia de germinação foram utilizados para calcular a Porcentagem de Germinação (%) de cada tratamento utilizando a equação:

$$\%\ germinação = \left(\frac{n°\ de\ sementes\ germinadas}{n°\ de\ sementes\ totais}\right) \times 100$$

Ademais, no 7° dia, 3 placas de cada tratamento foram sorteadas e colhidas para serem mensurados o comprimento, a massa fresca e a massa seca das radículas e partes aéreas de cada uma das plântulas germinadas.

Béqueres foram previamente pesados, antes de receberem as amostras. E em seguida, eles foram levadas para a balança analítica Even, capaz de aferir as massas com 4 casas decimais de precisão (0,0001g). Para se calcular o peso do somatório das radículas ou das partes aéreas foram aplicados as seguintes fórmulas:

$$\sum \text{Peso das Radículas (g)} = (\sum \text{Peso das Radículas} + \text{Peso do Béquer}) - (\text{Peso do Béquer}).$$

$$\sum \text{Peso das Partes Aéreas (g)} = (\sum \text{Peso das P. A} + \text{Peso do Béquer}) - (\text{Peso do Béquer}).$$

Posteriormente com os dados organizados em excel, foram realizados cálculos para dimensionar qual seria o valor de cada unidade amostral, a partir da seguinte fórmula:

$$Peso\ da\ radícula = \frac{\sum peso\ das\ radículas\ \ da\ placa\ (x)}{n°\ de\ radículas\ da\ placa\ (x)}$$

$$Peso\ da\ parte\ aérea = \frac{\sum peso\ das\ partes\ aéreas\ \ da\ placa\ (x)}{n°\ de\ partes\ aéreas\ da\ placa\ (x)}$$

Para obtenção do peso seco, as radículas e partes aéreas foram secas em estufa com circulação forçada de ar, por 48 h a 80 °C até atingirem peso constante.

4.4. CONDIÇÕES DE PLANTIO E CRESCIMENTO DO TOMATEIRO CV. SANTA CRUZ E INOCULAÇÃO DE *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 E/OU SOBRENADANTE DA CULTURA NAS SEMENTES E NO COLO PLANTA

4.4.1. Local e condições para o plantio

Plantas de tomateiro cv. Santa Cruz foram cultivados sob iluminação artificial, com um fotoperíodo de 12 h. O experimento foi conduzido sob Deliniamento Inteiramente Casualizado (DIC) e a cada 3 ou 4 dias, os vasos eram embaralhados aleatoriamente, para que se evitasse um possível fototropismo. Além disso, a temperatura do ambiente foi mantida numa média de 25 °C ao longo de todo experimento. A Figura 2 demonstra como foi conduzido o experimento.

Figura 2: Fotografia do experimento do Plantio de tomateiros cv. Santa Cruz

4.4.2. Preparação do substrato para plantio dos tomateiros

Foram preparados 2 experimentos, cada um com 48 amostras de tomateiros plantados em vasos de 500 mL. Cada um desses vasos recebeu 450 mL de substrato. O substrato foi composto por uma mistura de composto orgânico Floreira (Natus Solos do Brasil) e areia média, na proporção de 2:1, respectivamente. Todos os vasos foram nomeados para identificação dos tratamentos subsequentes.

O tratamentos foram arranjados em fatorial 6 x 2 (seis tratamentos e duas doses), cada um com quatro repetições. Os tratamentos foram: três (3) tipos de inoculação nas sementes –

água destilada estéril, suspensão de células de *B. amyloliquefaciens* VR002 (0,5 DO/mL) e sobrenadante da cultura de *B. amyloliquefaciens* VR002 –, dois (2) tipos de inoculação nas plântulas após desbaste – 2 mL de água destilada ou 2 mL de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 na absorbância de 0,8 DO/mL durante 3 dias consecutivos – e duas (2) concentrações de salinas – 0 e 150 mM de NaCl – após o aparecimento de 2 a 3 pares de folhas verdadeiras nos tomateiros (Quadro 2).

Quadro 2: Tratamentos realizados na semente e no colo das plantas de tomateiro, nomenclatura em sigla dos tratamentos e indução do estresse salino a partir de irrigação realizada no solo com soluções de NaCl.

Tratamentos			Dose
Inoculação na semente	Inoculação no colo da planta	Código	Irrigação com solução de NaCl (mM)
Água	Água	AA	0
			150
	Bactéria	AB	0
			150
Bactéria	Água	BA	0
			150
	Bactéria	BB	0
			150
Sobrenadante	Água	SA	0
			150
	Bactéria	SB	0
			150

4.4.3. Inoculação das sementes e semeadura

A inoculação das sementes foi realalizada da mesma forma como descrita no item referente à germinação das sementes do tomateiro: 4.3 - “Efeito de inoculação da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 ou do sobrenadante da cultura bacteriana na germinação das sementes de tomateiro cultivar Santa Cruz em diferentes concentrações de NaCl”.

Foram separados 3 grupos de 100 sementes de tomateiro Santa Cruz e elas foram lavadas. Em seguida cada um desses grupos foi desinfestado e transferido para erlenmeyrs de 250 mL estéreis e inoculados com tratamento inicial de 120 mL de: água destilada estéril (sem inoculação), suspensão de *B. amyloliquefaciens* VR002 (0,5 DO/mL) e sobrenadante da cultura de *B. amyloliquefaciens* VR002. Em seguida, as sementes foram mantidas sob agitação em incubadora shaker com agitação de 165 rpm na temperatura de 25 °C, durante 1 hora. Em seguida, 5 sementes foram distribuidas em cada vaso e regadas durante os 11 primeiros dias inicias.

4.4.4. Irrigação das plantas e fertilização mineral

A irrigação das plantas ocorreu de maneira manual, onde o volume de água foi ajustado de acordo com o crescimento e necessidade das plantas. Durante os 11 primeiros Dias Após Semeadura (DAS) as plantas foram irrigadas por asperções de água destilada, em quantidades homogeneas, aumentando o número de asperções de acordo com o crescimento do vegetal. No 12° DAS as plantas começaram a ser irrigadas com 30 mL de água destilada no solo, num intervalo de 3 a 4 dias. As regas aconteciam de maneira alternada, ou seja, se em um dia a planta recebia 30 mL água destilada, após 3 ou 4 dias, ela receberia 30 mL de Solução Nutritiva de Hoagland. Inicialmente a solução nutritiva de Hoagland foi preparada com 1/3 da força iônica (14 DAS). Na semana seguinte com 1/2 força iônica (21 DAS). E na semana seguinte com força iônica total (28 DAS) e assim procedeu até o fim do experimento (65 DAS).

4.4.5. Inoculação das plantas de tomateiro cv. Santa Cruz

A 1ª inoculação das plantas ocorreu após desbaste (13 DAS). Cada planta recebeu durante 3 dias consecutivos, 2 mL de água destilada ou 2 mL de *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 na absorbância de 0,8 DO/mL (16, 17 e 18 DAS). A 2ª inoculação ocorreu aos 42, 43 e 44 DAS onde a mesma dosagem de água e bactéria foram aplicadas na região da rizosfera.

4.4.6. Indução do estresse salino nas plantas de tomateiro da cv. Santa Cruz

A indução de estresse salino, foi feita a partir da irrigação no substrato da planta com soluções de água destilada ou Hoagland acrescidas de 150 mM de NaCl. A aplicação do estresse começou a partir do momento em que as mudas de tomateiro estavam com 2 a 3 pares de folhas verdadeiras (44 DAS) e prosseguiu até o momento de colheita (65 DAS). As plantas foram irrigadas de 3 em 3 dias com 40 mL de água destilada ou 40 mL de solução nutritiva de Hoagland (ambas com 150 mM de NaCl), alternando as irrigações entre água destilada e Hoagland. No total foram realizadas 6 regas no solo com a concentração de estresse salino, elas aconteceream no intervalo de 3 a 4 dias (44, 48, 51, 55, 58, 62 DAS). Já as plantas que não foram estressadas simplesmente receberam água ou Hoagland nesses mesmos dias.

4.4.7. Colheita das plantas

Os tomateiros foram colhidos 65 DAS para serem medidos os seus parâmetros morfológicos e bioquímicos. Primeiramente foi medido a altura da base do caule até o topo

da gema apical, o diâmetro de colo na altura de 6 cm, o número de folhas e o Índice de Clorofila Falker (ICF), por método não destrutivo realizado com o clorofilômetro ClorofiLOG-CFL1030 (marca Falker). Em seguida foram sendo retirados folíolos e folhas para a pesagem e envio das quantidades específicas para cada análise posterior. Após esse procedimento, as plantas foram cortadas na base dos caules e pesadas para registro da massa fresca das suas raízes e partes aéreas. As raízes foram retiradas cuidadosamente do substrato, a partir de sua lavagem sobre uma peneira. Em seguida foram secas em papel toalha e foram registrados os seus pesos úmidos. Cada amostra de raíz e parte aérea foi guardada em sacos de papel previamente pesados e, levadas para estufa a 85 °C por 4 dias, após isso o peso seco de parte aérea e raízes foram registrados.

4.5. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE *B. amyloliquefaciens* VR002 E/OU SOBRENADANTE DA CULTURA SOBRE O TOMATEIRO CV. SANTA CRUZ CULTIVADO SOB ESTRESSE SALINO

4.5.1. Índice de Qualidade de Dickson

Para a análise de qualidade das plantas nos experimentos foi utilizado o Índice de Qualidade de Dickson (IQD). Este é considerado um ótimo índice para indicar a qualidade, por levar em consideração no seu cálculo a robustez e o equilíbrio em que a fitomassa está distribuída (DICKSON, LEAF & HOSNER, 1960; FONSECA, 2000). Nele são considerados vários parâmetros importantes como a massa seca da parte aérea (MSPA), a massa seca das raízes (MSR), a massa seca total (MST), altura (H) e diâmetro do colo (DC) das mudas conforme pode ser observado na fórmula abaixo (MEDEIROS, 2018).

Fórmula para calcular o Índice de Qualidade de Dickson (IQD):

$$IQD = \frac{MST\ (g)}{\frac{H\ (cm)}{DC\ (mm)} + \frac{MSPA\ (g)}{MSR\ (g)}}$$

4.5.2. Análise não destrutiva da clorofila a partir do clorofilômetro

Análises do teor de clorofila em plantas são amplamente empregadas para diagnóstico do estado nutricional das plantas, visto que este parâmetro possui uma relação direta com o acúmulo de nitrogênio, sendo um indicativo de qualidade no rendimento de culturas (MESA, 2018).

Para determinação do teor de clorofila foi utilizado o medidor portátil e eletrônico clorofiLOG (CFL1030) da marca Falker, capaz de medir a quantidade de clorofila presente na porção da folha de forma ótica, a partir da quantidade de luminosidade transmitida pelo tecido vegetal em três faixas de frequência de luz, obtendo assim os resultados de Clorofila *a* e *b* e consequentemente da Clorofila Total a partir do somatório dos 2 primeiros parâmetros (FALKER, 2018).

Duas folhas de cada planta foram escolhidas e marcadas, para serem sempre medidas a clorofila do folíolo mais externo de cada folha. O aparelho era pressionado sobre a face adaxial e abaxial do foliolo. A partir da relação de intensidade de luz refletida, automaticamente era realizado o cálculo do teor de clorofila e esses resultados foram expressos em Índice de Clorofila Falker – ICF (LUZ, *et al.* 2009). Essa unidade de medida é adimensional, mas, por se tratar de um índice, é possível relacionar seu valor aos teores de clorofila presentes na folha. Além disso, o índice ICF de cada planta pode ser comparado entre si para verificar qual tratamento promoveu os melhores conteúdos de clorofila.

4.5.3. Pigmentos Fotossintéticos

Os conteúdos de clorofila total, clorofila *a* (*Chl a)*, clorofila *b (Chl b)* e carotenóides foram medidos de acordo com Masmoudi *et al.* (2021). Foram utilizadas aproximadamente 100 mg de folhas frescas para determinar os teores de clorofila e carotenoides. Essas amostras foram maceradas em pilão e almofariz com a adição de 10 mL de acetona 80% (v/v), para a extração dos pigmentos fotossintéticos.

Em seguida, os extratos foram transferidos para tubo falcom de 15 mL e embrulhados com papel alumínio, para ficarem ao abrigo da luz e mantidos sob refrigeração (4 °C) por 4 dias.

Após esse período, a absorbancia da solução foi medida nos comprimetos de onda de 663, 647 e 470 nm para quantificação do conteúdo de cloriflas e carotenóides. As concentrações de Clorofila *a* (*Chl a*), clorofila *b* (*Chl b*) e carotenóide total

foram calculadas de acordo com a fórmula descrita por Wellburn (1994).

$$\text{Clorofila } a = (12.25 \times \text{OD } 663) - (2.79 \times \text{OD } 647)$$

$$\text{Clorofila } b = (21.5 \times \text{OD } 647) - (5.1 \times \text{OD } 663)$$

$$\text{Carotenoide} = \frac{[(1000 \times \text{OD } 470) - (1.82 \times \text{Chl}a) - (85.02 \times \text{Chl}b)]}{198}$$

4.5.4. Avaliação do teor de prolina

A avaliação do teor de prolina presente nas plantas foi realizada pelo método colorimétrico como descrito por Bizzo *et al.* (2014). Aproximadamente 0,25 g de material vegetal foi macerado em 2 mL de ácido sulfosalicílico 3% (m/v). Após isso, 1,5 mL do homogeneizado foi colhido e armazenado em microtubos de 2 mL. Estes microtubos foram levados para centrifuga a 10000 rpm a 4°C, durante 10 minutos. Em seguida, foi coletado 1 mL do sobrenadante e transferido para um tubo falcom de 15 mL. Nesse tubo também foram adicionados 1 mL de ninidrina ácida (2,5% de ninidrina (m/v) + 50% de ácido ortofosfórico (v/v)) e 1 mL de ácido acético glacial. Essa solução foi homogeneizada e levada para banho-maria fervente durante 60 minutos. Passado o tempo, os tubos foram resfriados em banho de gelo para paralisar a reação e a absorbancia das soluções foi medida em espectofotômetro no comprimento de onda de 518 nm. Os resultados da absorbância foram comparados à curva-padrão de prolina e foram expressos em micrograma/grama. Uma solução de ácido sulfossalicílico (3%), ninidriana ácida e ácido acético glacial, nas proporções (1:1:1) foi utilizada como branco.

4.5.5. Peroxidação Lipídica

Um dos danos oxidativos induzidos pelo sal acontecem através da peroxidação lipídica, onde membranas celulares das plantas são afetadas, liberando a molécula de Malondiadeído (MDA) para as folhas. Quanto maior for a quantidade dessas moléculas no tecido vegetal, provavelmente maior será o dano que as membranas do tecido vegetal sofreram (Wang *et al.*, 2019).

A quantificação da peroxidação lipídica foi realizada segundo Bizzo *et al.* (2014), com modificações. Foram pesados 250 mg da planta, em seguida adicionou-se 2,5 mL de ácido tricloroacético (0,1%) para macerá-las. Posteriormente 2 mL do extrato foram transferidos para microtubos de 2 mL e levados para centrifuga a 13000 rpm, por 15 minutos a temperatura ambiente. Após isso, 1 mL do sobrenadante foi coletado e transferido para tubos de 15 mL e adicionados 3 mL de uma solução de ácido tricloroacético (20%) + ácido tiobarbitúrico (0,5%).

Os tubos foram levados para agitador tipo vórtex e após homogeneizados foram aquecidos em banho maria com água fervente por 30 minutos. Em seguida, as amostras ficaram

em repouso até atingirem temperatura ambiente e a absorbancia da solução foi medida em espectrofotômetro utilizando os comprimentos de onda de 532, 600 e 455nm.

O comprimento de onda de 532 nm representa a absorbância máxima do sobrenadante, o de 600 nm representa a absorbância não específica. Logo, o conteúdo de Malondialdeído foi medido através da equação:

$$MDA = \frac{OD\ 532\ nm - OD\ 600\ nm}{155x1}$$

Já o conteúdo de aldeídos foi medido aplicando o comprimento de onde de 455nm, através da equação:

$$Aldeído = \frac{(OD\ 455\ nm - OD\ 600nm)}{45{,}7\text{x}1}$$

As equações citadas demonstram a aplicação do coeficiente de extinção molar (e) = 1,55 x 10^5 $M^{-1}cm^{-1}$, para obtenção dos resultados de Malondialdeído (mM) e do coeficiente de extinção molar (e) = 0,457 x 10^5 $M^{-1}cm^{-1}$ para obtenção dos resultados dos outros Aldeídos (mM). Posteriormente os resultados de cada fórmula foram adequados ao volume e peso final das amostras e expressos em nanomols por grama (nmol/g).

4.5.6. Extravasamento de Eletrólitos

O extravazamento de eletrólitos foi estimado de acordo com Bizzo *et al.* (2014) com modificações. Esta é uma medida indireta para a determinação do grau de danos de membrana celular.

Foram pesados, separadamente, 200 mg de folhas frescas. O material vegetal foi transferido para tubos de 50 mL, aos quais adicionou-se 15 mL de água ultra pura. Os frascos foram deixados em repouso sob temperatura ambiente (25 °C) durante 3h.

Após esse período, o sobrenadante foi medido, com o auxílio de um condutivímetro elétrico da marca Tecnal (TEC-4MP). Foram aferidas a condutividade elétrica inicial (C1) da solução nos tubos falcom. Em seguida, os tubos foram aquecidos em banho maria fervente, por 20 minutos, para liberação de todos os eletrólitos. Após resfriamento desses tubos à temperatura ambiente, a condutividade elétrica da solução (C2) foi novamente medida.

O extravazamento de eletrólitos (EE) foi estimado através da equação abaixo:

$$EE\ (\%)\ = \frac{C1}{C2} x\ 100$$

4.6. TESTES ESTATÍSTICOS

Todos os experimentos foram organizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC). O Software R-BIO (BHERING, 2017) foi utilizado para verificar a homocedasticidade

e a normalidade dos dados de cada parâmetro utilizando os testes de Bartlett e Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) respectivamente. Quando estes eram homocedásticos e normais, foram aplicados os testes de análise de variância (ANOVA), a partir do Software Sisvar (FERREIRA, 2011). Na presença de diferença significativa foi aplicado o teste de médias Scott-Knott. Todos os testes foram realizados com nível de 5% de significância (SAPRE, GONTIA-MISHRA & TIWARI, 2018). Os resultados que não passaram no teste de homocedasticidade e normalidade foram avaliados pela observação da média e desvio padrão das repetições.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir serão apresentados os resultados e discussões obtidos ao longo da pesquisa. Será possível observar ao longo das ANOVAs que os Coeficientes de Variação (CV) variaram entre 9,25 e 29,93%. Segundo Pimentel-Gomes (1985), os CV são considerados baixos, quando menores do que 10%, médios entre 10 e 20%, altos entre 20 e 30% e muito altos quando maiores do que 30%. Entretanto, essa classificação é muito ampla e não considera todas peculiaridades de cada parâmetro analisado na pesquisa, ela apenas indica uma variabilidade relativa a fim de demonstrar o quão preciso foi cada experimento (GARCIA, 1989). Esses valores serão descritos para cada parâmetro que foi realizada a análise de variância e os resultados e discussões poderão ser conferidos a partir de agora.

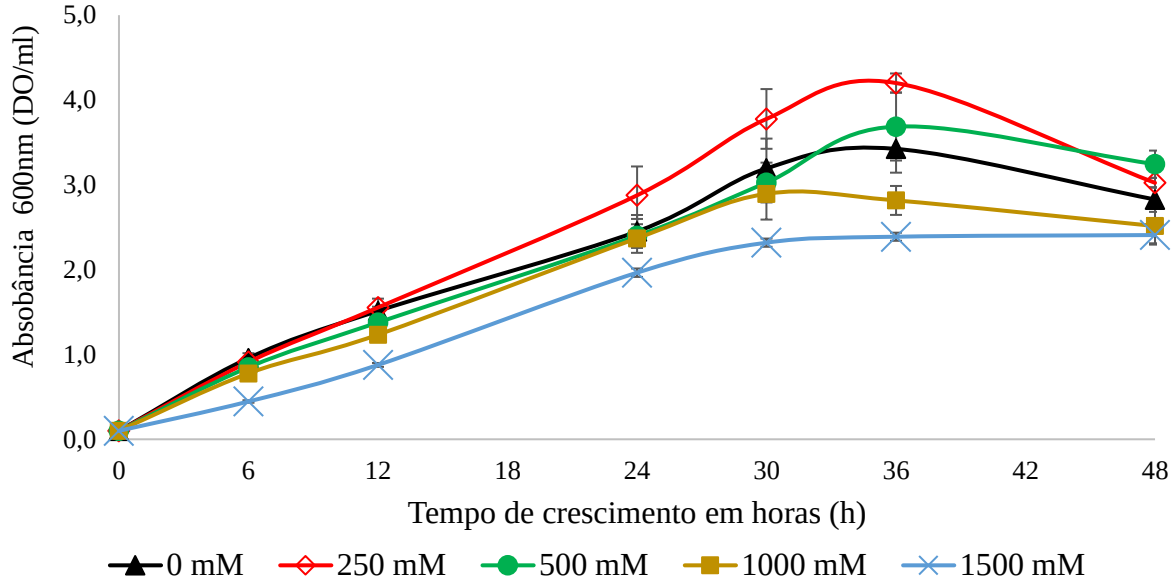
5.1. HALOTOLERÂNCIA DA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002

Ao se falar sobre a halotolerância de uma cultura bacteriana, está sendo verificado a capacidade daquela cepa em sobreviver em ambientes com altas concentrações de NaCl. Conforme é possível observar na Figura 3, a *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 conseguiu crescer em todas as concentrações de NaCl testadas. Embora ela tenha apresentado reduções de crescimento na dose de 1500 mM de NaCl, ainda assim ela obteve crescimento, atingindo absorbância máxima de 2,4 DO/mL às 48 horas. Logo, esse microrganismo foi considerado halotolerante ao cloreto de sódio e apto para ser aplicado nas sementes e no substrato onde seriam plantados os tomateiros, visto que os experimentos com as plantas seriam conduzidos em concentrações salinas de apenas 150 mM de NaCl e a *B. amyloliquefaciens* VR002 resistiu até 1500 mM de NaCl, com destaque para a concetração de 250 mM na qual o crescimento bacteriano foi superior ao controle sem NaCl.

Logo, na dosagem de 250 mM de NaCl a *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 teve o seu crescimento estimulado, atingindo a absorbância de 4,2 DO/ml na 36ª hora do experimento,

enquanto na dose de 0 mM de NaCl o crescimento neste mesmo horário foi de apenas 3,42 DO/ml.

Figura 3: Crescimento da *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 nas concentrações de 0, 250, 500, 1000 e 1500mM de NaCl. As barras verticais representam desvio padrão da média de 3 repetições.



Esse comportamento foi uma característica interessante para considerar a halotolerância da VR002, visto que no trabalho de Shahzad *et al.* (2017), a cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 quando testada nas concentrações de 0, 120 e 250 mM apresentou crescimento reduzido a medida que a concentração salina aumentava e ainda sim conseguiu sobreviver e promover características de crescimento vegetal às plantas.

Já em relação ao trabalho de Nautiyal *et al.* (2013), os autores testaram o crescimento da estirpe *B. amyloliquefaciens* SN13 a diferentes concentrações salinas. A SN13 apresentou crescimento até 2500 mM de NaCl, porém somente após 10 dias de incubação. Este tempo de incubação e essas concentrações salinas não foram testadas para a *B. amyloliquefaciens* VR002, porém, algo que os dois trabalhos têm em comum é a capacidade dessas duas cepas de *B. amyloliquefaciens* crescerem em altas concentrações salinas.

Vale ressaltar, que no trabalho de Nautiyal *et al.* (2013), a *B. amyloliquefaciens* SN13 demonstrou uma fase lag extensa, de 48 h na presença de 50 e 100 mM de NaCl, atingindo ~ 2,1 x 10^{7-8} CFU/mL, enquanto a VR002 apresentou uma fase lag de apenas 6 horas, para as concentrações de 0, 250, 500 e 1000 mM de NaCl e as 36 h atingiu o seu pico de crescimento, com aproximadamente: 3,4 x 10^{8} CFU/mL na concentração de NaCl controle; 4,2 x 10^{8} CFU/mL na concentração de 250 mM de NaCl; e 3,7 CFU/mL na concentração de 500 mM de

NaCl demonstrando uma maior crescimento bacteriano, em um menor tempo, quando comparado com com a SN13.

Por fim, a SN13 quando exposta a 250-1000 mM de NaCl apresentou um crescimento de apenas 10^6 e 10^4 CFU/mL, após uma fase lag de 5 dias, enquanto a VR002 em apenas 6 h já demonstrou um crescimento superior a esses valores, atingindo ~ 0,9 x 10^7 e 0,7 x 10^7 CFU/mL para as concentrações de 250 e 1000mM resperctivamente.

Todas essas características demonstram como as diferentes cepas de *B. amyloliquefaciens* crescem de maneira variada quando em contato com doses de NaCl. A VR002 e SN13 são mais halotolerantes e a RWL-1 possui tolerância menor. Porém, tanto a SN13, como a RWL-1 demonstraram atributos na promoção do crescimento vegetal e halotolerância das plantas, logo como a *B. amyloliquefaciens* VR002 também demonstrou atributos interessantes quando cultivada em caldo nutriente salino, decidiu-se testá-la como um inóculo para a germinação e crescimento do tomateiro.

5.2. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 OU DO SOBRENADANTE DA CULTURA SOB A GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE TOMATEIRO CV. SANTA CRUZ EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES SALINAS

O teste de germinação foi realizado para verificar se a inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 ou com o sobrenadante da cultura, exerceria algum efeito sobre a porcentagem de germinação ou sobre o comprimento e massa da radícula e da parte aérea.

5.2.1. Porcentagem (%) de germinação

A fim de se observar como as sementes do tomateiro cultivar Santa Cruz sem inoculação (água destilada), com inoculação da VR002 e com o sobrenadante da cultura germinariam em contato com as diferentes concentrações de NaCl, foi contabilizado, no 7° dia após a semeadura, a porcentagem de germinação de cada placa petri.

A Tabela 1 apresenta os dados relativos à porcentagem média de germinação das sementes do tomateiro (CV = 19,61%), demonstrando uma influência da concentração salina no parâmetro analisado, uma vez que a aplicação de 100 e 150 mM de NaCl reduziram significativamente a germinação. O teste de Scott-Knott demonstra que as sementes tiveram porcentagem de germinação iguais para as doses de 0 e 50 mM NaCl e diminuiram a medida que a concentração salina aumentou, como é possível observar na coluna Média geral das doses da Tabela 1.

Tabela 1: Pocentagem de germinação das sementes de tomateiro cv. St. Cruz, inoculadas com água destilada (controle), *B. amyloliquefaciens* VR002 e sobrenadante da cultura bacteriana e germinadas em substrato ágar-água (2%) nas doses 0, 50, 100 e 150mM de NaCl.

	Tratamentos			
	Água	VR002	Sobrenadante	Média geral das doses
NaCl (mM)	Porcentagem (%) de Germinação			
0	92,00 ± 8,37	82,00 ± 14,83	90,00 ± 0,00	88,00 A
50	86,00 ± 20,74	76,00 ± 13,42	88,00 ± 4,47	83,33 A
100	70,00 ± 10,00	74,00 ± 13,42	68,00 ± 13,04	70,67 B
150	22,00 ± 16,43	6,00 ± 8,94	10,00 ± 12,25	12,66 C

As colunas Água, VR002 e Sobrenadante representam a média e o desvio padrão amostral de 5 repetições As letras maíusculas comparam diferenças na coluna "Média geral das doses". Para fatores de variação não significativos essa diferença não foi expressa em letras.

Essa diminuição na porcentagem de germinação a medida que a concentração salina aumentou foi um fator esperado, visto que no trabalho de Maia Júnior *et al.* (2020), feito com espécies de tomateiro cv. IPA 6, as sementes que germinaram em substratos com 4,5 dS/m (~ 50 mM de NaCl) tiveram a sua porcentagem de germinação reduzida. Porém o tomateiro cv. St. Cruz demonstrou uma resistência maior à salinidade, em relação ao IPA 6, conseguindo germinar igualmente para as doses de 0 e 50 mM de NaCl.

Em relação à inoculação das sementes com a *B. amyloliquefaciens* VR002 ou com o sobrenadante da cultura, estes não representaram diferença significativa para as porcentagens de germinação. Este resultado corrobora com os resultados de Naamala *et. al* (2022), onde após inoculação das sementes de soja e milho, com o sobrenadante de *B. amyloliquefaciens* EB2003, também não foi encontrado diferenças na porcentagem de germinação dessas duas espécies, quando elas cresceram em 0 mM de NaCl, e na cultura de milho quando cresceu em 50 mM de NaCl.

Porém, na cultura de soja estressada com 50 mM de NaCl, a inoculação com 0,1 e 1% da concentração do sobrenadante de *B. amyloliquefaciens* EB2003 demonstrou efeitos positivos na porcentagem de germinação. Logo, pode ser interessante testar em futuros trabalhos outras concentrações de *B. amyloliquefaciens* VR002 e do sobrenadante da cultura pois nas concentrações atualmente testadas elas não expressaram efeito significativo na porcentagem de germinação das sementes de tomateiro, em nenhuma das 4 doses de NaCl testadas.

5.2.2. Comprimento das radículas e partes aéreas

No sétimo dia após semeadura, foram medidos os comprimentos das radículas e partes aéreas das plântulas presentes nas placas petri. A Tabela 2 apresenta os dados relativos a esses

parâmetros, demonstrando uma influência da concentração salina em ambos, uma vez que o comprimento da radícula (CV = 12,53%) diminuiu significativamente a medida que a concentração salina aumentou e o comprimento da parte aérea (CV = 15,50%) se manteve igual para 0 e 50 mM de NaCl, mas decaiu gradativamente de 100 para 150 mM de NaCl (Tabela 2).

Tabela 2: Comprimento das radículas e partes aéreas das plântulas de tomateiro cv. St. Cruz após 7 dias de semeadura, inoculadas quando sementes com água destilada (controle), *B. amyloliquefaciens* VR002 e sobrenadante da cultura bacteriana e germinadas em substrato ágar-água (2%) com doses 0, 50, 100 e 150mM de NaCl.

	Tratamentos			
	Água	VR002	Sobrenadante	Média Geral das Doses
NaCl (mM)	Comprimento das radículas (cm)			
0	9,77 ± 1,34	10,38 ± 0,40	9,66 ± 0,41	9,94 A
50	8,26 ± 0,29	8,43 ± 1,20	7,33 ± 0,52	8,01 B
100	4,33 ± 0,40	3,76 ± 0,51	3,89 ± 0,73	3,99 C
150	0,91 ± 0,93	0,23 ± 0,40	0,39 ± 0,17	0,51 D
	Comprimento das partes aéreas (cm)			
0	4,27 ± 0,68	4,93 ± 0,60	4,78 ± 0,41	4,66 A
50	4,23 ± 0,34	4,30 ± 0,32	4,21 ± 0,64	4,25 A
100	2,78 ± 0,28	2,49 ± 0,38	2,42 ± 0,35	2,56 B
150	0,51 ± 0,60	0,23 ± 0,40	0,29 ± 0,15	0,34 C

As colunas Água, VR002 e Sobrenadante representam a média e o desvio padrão amostral de 3 repetições As letras maíusculas comparam diferenças na coluna "Média geral das doses". Para fatores de variação não significativos essa diferença não foi expressa em letras.

Um comportamento parecido foi observado em Maia Júnior *et al.* (2020), onde as plântulas de tomateiro tiveram tamanhos reduzidos quando expostas a condutividade elétrica de 4,5 dS/m (~50 mM de NaCl). Em seu trabalho foi observado uma diminuição no comprimento das radículas e partes aéreas de 42 e 6,7%, quando expostas ao sal, respectivamente.

No presente trabalho, a diminuição do comprimento das radículas também foi maior do que a das partes aéreas. As radículas estressadas com 50 mM de NaCl, foram 19,42% menores do que as que cresceram em 0 mM de NaCl e expressaram diferenças significativas. Já as partes aéreas com 50 mM de NaCl foram 8,8% menores do que as que cresceram na dose controle, mas não expressaram diferenças significativas. Logo, pode-se concluir que a salinidade afeta principalmente no comprimento das radículas do que no das partes aéreas.

Em relação ao comprimento das radículas, os resultados da presente pesquisa corroboram em partes com os resultados de Naamala *et al.* (2022), visto que a inoculação, tanto com a cepa VR002, como com a cepa EB2003 não proporcionaram aumento no comprimento

das radículas nas doses de 0 mM de NaCl para as sementes de tomateiro e milho respectivamente. Porém, para cultura da soja, com as mesmas condições, a inoculação da EB2003, proporcionou um aumento significativo no comprimento das raízes.

5.2.3. Massas das radículas e partes aéreas

5.2.3.1. Massa fresca da radícula e parte aérea

Os resultados da Massa Fresca da Radícula (MFR) e da parte aérea (MFPA) estão expressos na Tabela 3. A MFR, foi avaliada de acordo com a média e desvio padrão, por não terem passado no teste de homocedasticidade. Já em relação a MFPA foi observado diferença significativa na interação Tratamento * Dose (CV = 13,53%).

Ao observar a MFR é possível perceber um aumento da massa, quando essas foram tratadas com *B. amyloliquefaciens* VR002 ou com o sobrenadante da cultura, nos substratos com 0 e 50 mM de NaCl. Quando crescidas em 0 mM de NaCl, as radículas tratadas com VR002 e com o sobrenadante da cultura, atintigiram a massa de 2,69 mg e 2,59 mg, enquanto a MFR do controle apresentou apenas 1,42 mg. Já quando crescidas em 50 mM de NaCl, elas apresentaram 1,55 mg e 1,40 mg, enquanto o controle apresentou massa apenas 0,95 mg. Logo, em baixas salinidades esses tratamentos atuaram favorecendo o acúmulo da MFR.

Ao observar a MFPA, nas dose de 0 mM de NaCl, é possível perceber que aquelas que tiveram as suas sementes inoculadas com a *B. amyloliquefaciens* VR002 ou com o sobrenadante da cultura tiveram um aumento significativo, atingindo 23,09 e 22,73 mg, enquanto o controle teve a massa de apenass 18,15 mg. Para as outras doses os tratamentos agiram iguais estatisticamente. Logo, sem a presença de NaCl esses tratamentos também expressaram características na promoção do crescimento vegetal.

Tabela 3: Massa fresca das radículas e partes aéreas das plântulas de tomateiro cv. St. Cruz, inoculadas com água destilada (controle), *B. amyloliquefaciens* VR002 e sobrenadante da cultura bacteriana em substrato ágar-água (2%) com doses 0, 50, 100 e 150mM de NaCl.

	Tratamentos											
	Água		VR002		Sobrenadante		Água		VR002		Sobrenadante	
NaCl (mM)	MFR (mg)						MFPA (mg)					
0	1,42 ± 0,32		2,69 ± 0,20		2,59 ± 0,56		18,15	bB	23,09	aA	22,73	aA
50	0,95 ± 0,32		1,55 ± 0,10		1,40 ± 0,66		24,71	aA	23,90	aA	23,00	aA
100	0,57 ± 0,26		0,32 ± 0,06		0,43 ± 0,19		11,92	aC	9,80	aB	9,18	aB
150	0,36 ± 0,50		0,00 ± 0,00		0,38 ± 0,47		1,92	aD	0,30	aC	0,92	aC

As colunas Água, VR002 e Sobrenadante representam a média e o desvio padrão amostral de 3 repetições As letras maíusculas comparam diferenças na coluna e as letras minúsculas comparam diferença na linha. Para fatores de variação não significativos essa diferença não foi expressa em letras.

Os trabalho de Jiao *et al.* (2020) quando inoculou as sementes de tabaco com as cepas *B. amyloliquefaciens* Y2 e YN201732, também observou ganhos significativos na massa fresca das plântulas em relação ao controle. No trabalho de Imran, Abo-Elyousr e Saar (2022), também foram observados resultados no acréscimo da massa fresca quando utilizou-se a *B. amyloliquefaciens* KAUBL2 para inocular as plântulas de tomateiro. Sendo assim, é possível notar que os resultados do presente trabalho corroboram com os da literatura, visto que a *B. amyloliquefaciens* VR002 também contribui para o ganho da biomassa fresca quando cresceram em substratos sem salinidade.

5.2.3.2. Massa seca da radícula e parte aérea

Os resultados da massa seca da radícula (MSR) e da parte aérea (MSPA) podem ser observados na Tabela 4. Para ambos os parâmetros foram observados diferenças significaticas na interação Tratamento * Dose. Em relação à MSR (CV = 12,27 %) foi possível perceber que na dose de 50 mM de NaCl, as sementes que foram inoculadas com a *B. amyloliquefaciens* VR002, apresentaram valores significativamente maiores (0,73 mg), enquanto as tratadas com água destilada ou sobrenadante da cultura apresentaram 0,55 e 0,59 mg respectivamente. Além disso, pode-se observar que este tratamento foi o único que não expressou diferença significativa entre as doses de 0 e 50 mM de NaCl, atribuindo resistência à MSR.

Em relação à MSPA (CV = 15,10 %), foi observado que plântulas tratadas com água e *B. amyloliquefaciens* VR002 e crescidas em substrato com 100 mM de NaCl expressaram massas estatisticamente iguais, porém com o sobrenadante elas decresceram. Além disso, a MSPA nas doses de 0 e 50 mM de NaCl não expressaram diferenças significativas entre si para os três tratamentos. Em adição, no tratamento com água, a MSPA das plântulas crescidas em 0, 50 e 100 mM de NaCl foram iguais, o que demontra um aspecto de tolerância do tomateiro cv. St. Cruz à salinidade.

Tabela 4: Massa seca das radículas e partes aéreas das plântulas de tomateiro cv. St. Cruz, inoculadas com água destilada (controle), *B. amyloliquefaciens* VR002 e sobrenadante da cultura bacteriana em substrato ágar-água (2%) com doses 0, 50, 100 e 150mM de NaCl.

	Tratamentos											
	Água		VR002		Sobrenadante		Água		VR002		Sobrenadante	
NaCl (mM)	MSR (g)						MSPA (g)					
0	0,78	aA	0,73	aA	0,68	aA	1,47	aA	1,77	aA	1,75	aA
50	0,55	bB	0,73	aA	0,59	bB	1,74	aA	1,80	aA	1,75	aA
100	0,35	aC	0,36	aB	0,27	aC	1,45	aA	1,36	aB	0,99	bB
150	0,00	aD	0,00	aC	0,06	aD	0,10	aB	0,00	aC	0,28	aC

As colunas Água, VR002 e Sobrenadante representam a média e o desvio padrão amostral de 3 repetições As letras maíusculas comparam diferenças na coluna e as letras minúsculas comparam diferenças na linha.

Jiao *et al.* (2020) verificaram que as plântulas de tabaco quando inoculadas com a *B. amyloliquefaciens* Y2 e YN201732 tiveram um aumento significativo na massa seca em relação às tratadas com água, quando cresceram em 0 mM de NaCl. Embora no atual estudo, não seja possível perceber essa diferença significativa para a dose de 0 mM de NaCl, é possível perceber que a MSPA teve um acréscimo de aproximadamente 17 e 16% quando tratadas com *B. amyloliquefaciens* VR002 ou com o sobrenadante, respectivamente. Porém no trabalho feito com tabaco, cultura pertencente à família *Solanaceae* (mesma família que o tomateiro) esse acréscimo foi muito mais acentuado, aumentando 62,8 e 67,5 % a massa seca total das plântulas quando tratadas com a *B. amyloliquefaciens* Y2 e YN201732.

No trabalho de Masmoudi *et al.* (2021), o qual utilizou a *B. spizizenii* FMH45 para inocular sementes e plantas de tomateiro, também foi observado um aumento significativo na massa seca das plantas, onde aquelas crescidas em substratos com 0, 120 e 170 mM de NaCl tiveram ganhos significativos em sua massa seca. Embora os autores aferiram este parâmetro em um estágio mais avançado da vida do vegetal (aproximadamente 5 semanas), é possível observar que as bactérias do gênero *Bacillus* conseguem oferecer esse acréscimo de massa seca aos tomateiros.

No trabalho de Masmoudi *et al.* (2021), o único nível de salinidade onde a *B. spizizenii* FMH45 não promoveu acréscimos significativos na massa seca foi o de 60 mM de NaCl, já no presente trabalho o único nível de salinidade em que a *B. amyloliquefaciens* VR002, conseguiu promover o aumento da massa seca foi o de 50 mM de NaCl. O que demonstra uma característica que diferencia *B. amyloliquefaciens* VR002, nessa dose menor de sal, mas não lhe confere o acréscimo nas outras dosagens.

Em conclusão, nos três trabalhos, a utilização de bactérias do gênero *Bacillus*, promoveu acréscimo na massa seca das plântulas ou planta, seja na presença ou ausência de NaCl. Vale destacar este ponto positivo no aumento da MSR promovido pela *B. amyloliquefaciens* VR002 quando as sementes de tomateiro foram semeadas com 50 mM de NaCl, pois isto ocorreu na fase em que a plântula estava com apenas 7 DAS, demonstrando uma característica importante, no ínicio de vida do tomateiro. Ressaltando que 50 mM de NaCl, equivale a ~ 4,5 dS/m, condutividade elétrica acima daquela tolerada por essa espécie (2,5 dS/m) (DIAS *et. al*, 2016; SAHAB, *et al.*, 2021), logo esse acréscimo de 24,6% na MSR pode ter importâncias agrônomicas para a fase inicial da cultura do tomate.

5.3. EFEITO DA INOCULAÇÃO DA *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 E/OU DO SOBRENADANTE DA CULTURA SOBRE PARÂMETROS MORFOLÓGICOS DOS TOMATEIROS 65 DIAS APÓS SEMEADURA

Após o teste de germinação foi realizado um novo experimento para verificar como a inoculação da *B. amyloliquefaciens* VR002 e/ou do sobrenadante da cultura influenciariam no crescimento dos tomateiros da cv. Santa Cruz. Para este experimento foram aplicados seis tratamentos e duas doses, conforme exposto no Quadro 2 no tópico Materiais e Métodos.

A seguir são apresentados os resultados dos dados morfológicos dos tomateiros, 65 dias após a semeadura para cada tratamento e dose recebidos.

5.3.1. Altura, diâmetro, comprimento da raiz e número de folhas

Os resultados da altura, diâmetro, comprimento da raiz e número de folhas estão expressos na Tabela 5. Os parâmetros da altura e número de folhas foram avaliados a partir da média e desvio padrão de cada Tratamento * Dose, pois ambos não passaram no teste de normalidade. Já para os dados do diâmetro e o comprimento da raiz foram aplicados a ANOVA e o teste de Scott-knott.

Em relação à altura, pode-se observar que na média geral das doses, que os tomateiros irrigados com 150 mM de NaCl (24,6 cm) foram ~ 9,6% menores, comparado com aqueles que não foram estressados (27,2 cm). Já as diferentes formas de inoculação aparentemente não influenciaram na altura, pois os tomateiros irrigados com 0 mM de NaCl tiveram uma altura próxima, variando entre 25,8 e 28,5 cm e os tomateiros irrigados com 150 mM de NaCl também, variando entre 23,0 e 25,8 cm.

Para o diâmetro (CV = 9,25%), foi possível observar diferenças significativas nos tratamentos e nas doses. Os tomateiros que receberam a inoculação de SA e AB, apresentaram diâmetros maiores do que os tomateiros que receberam as outras formas de inoculação. Já em relação às doses, aqueles que foram irrigados com 150 mM de NaCl tiveram diâmetros menores.

No comprimento da raiz (CV = 28,11 %), a única diferença significativa foi no fator de variação tratamento, onde os tomateiros inoculados com SA, que apresentaram raízes maiores do que todos os outros tradados com as variadas formas de inoculação.

Por fim, em relação ao número de folhas, as plantas variaram de 8 a 10, mas ao observar as médias, todos os valores foram muito próximos, logo aparentemente a inoculação e o estresse salino não influenciaram neste parâmetro.

Tabela 5: Parâmetros morfológicos da altura, diâmetro, comprimento total da raiz e n° de folhas dos tomateiros cv. St. Cruz submetidos à estresse salino de 0 e 150 mM de NaCl e tratados com diferentes inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002.

	Altura (cm)		Diâmetro (mm)		Comp. da raiz (cm)		Número de folhas	
Tratamentos	0	150	0	150	0	150	0	150
AA	27,3 ± 4,2	25,0 ± 2,2	3,1 ± 0,5	2,9 ± 0,1	30,4 ± 11,8	21,8 ± 4,9	9,3 ± 2,5	9,0 ± 2,0
AB	28,5 ± 1,3	25,8 ± 0,5	3,3 ± 0,1	3,0 ± 0,4	25,9 ± 7,1	23,4 ± 7,9	8,0 ± 0,0	9,0 ± 2,2
BA	28,0 ± 0,8	25,8 ± 1,5	3,1 ± 0,2	2,4 ± 0,2	29,3 ± 4,8	28,3 ± 3,1	9,0 ± 1,4	8,8 ± 2,2
BB	27,0 ± 2,2	24,5 ± 1,7	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,1	27,1 ± 9,2	22,3 ± 4,0	9,5 ± 1,7	9,0 ± 2,2
SA	26,8 ± 1,5	23,0 ± 0,8	3,4 ± 0,3	3,3 ± 0,3	31,3 ± 8,0	39,3 ± 9,0	9,0 ± 2,7	9,5 ± 2,4
SB	25,8 ± 0,5	23,8 ± 1,0	3,1 ± 0,4	2,8 ± 0,2	27,3 ± 11,6	20,5 ± 3,7	10,0 ± 2,3	9,3 ± 2,5
Média Geral das Doses	27,2 ± 1,0	24,6 ± 1,1	3,1 ± 0,2	2,9 ± 0,3	28,5 ± 2,1	25,9 ± 7,1	9,1 ± 0,7	9,1 ± 0,3

AA - água na semente e água no colo da planta (controle); AB - água na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta; BA - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e água no colo da planta; BB - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e no colo da planta; SA - sobrenadante na semente e água no colo da planta; e SB sobrenadante na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta. Cada coluna representa ± desvio padrão amostral da média de 4 repetições.

Albuquere (2017), trabalhou com o tomateiro cv. Santa Clara e percebeu acréscimo da altura para todas as plantas inoculadas com cepas de *Bacillus spp.*, quando crescidas em 0 mM de NaCl, porém, com a indução de 100 mM de NaCl somente os tomateiros tratados com os isolados AP85 e AP100 demonstraram este acréscimo em relação ao controle. Nautiyal *et* al. (2013), também observou aumento na altura das plantas de arroz, crescidas em condições normais e de estresse salino e inoculadas com a *B. amyloliquefaciens* SN13. Porém, no atual trabalho a *B. amyloliquefaciens* VR002 não promoveu o aumento da altura na ausência ou presença de NaCl, o que diverge destes outros trabalhos.

Além disso, Albuquerque (2017) verificou que todos os isolados de *Bacillus spp.* contribuiram com o aumento do diâmetro dos tomateiros em 0 mM de NaCl, porém para os tomateiros crescidos em substrato de 100 mM de NaCl, nenhum tratamento apresentou diferença significativa. Neste sentido, a presente pesquisa, também observou que os tratamentos realizados com SA e AB proporcionaram aumento no diâmetro dos tomateiros, porém isso só ocorreu na média geral dos tratamentos, não sendo identificados efeitos exclusivamente dentro das doses de 0 e 150 mM de NaCl.

Em relação ao comprimento das raízes Nautiyal *et al.* (2013) verificou que as plantas de arroz tiveram acréscimos significativos quando inoculadas com *B. amyloliquefaciens* SN13 e crescidas em 0 e 200 mM de NaCl. No presente trabalho, esse aumento só foi expresso nas plantas tratadas com sobrenadante nas sementes e água no colo das plantas (SA), mas não foi identificado diferenças significativas dentro de cada dose.

Por fim, em relação ao número de folhas, Masmoudi *et al.* (2021), percebeu o aumento deste parâmetro para todos os tomateiros tratados com a *B. spizizennni* FMH45, seja nas doses de 0, 60, 120 e 170 mM de NaCl. Dhouib *et al.* (2019), também percebeu esse aumento nos tomateiros inoculados com *Bacillus velezensis* em condições de 0 mM de NaCl. Porém, no atual trabalho não houve este aumento.

Logo, pode-se concluir que para estes parâmetros analisados, em termos gerais as inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002 não expressaram ganhos expressivos para os tomateiros, como nos trabalhos de Nautiyal *et al.* (2013), Albuquere (2017), Dhouib *et al.* (2019) e Masmoudi *et al.* (2021). Isto provavelmente deve ter acontecido por conta de uma menor produção de fitormônios, como a ácido indolacético (AIA), ou uma menor capacidade da *B. amyloliquefaciens* VR002 em facilitar a absorção de alguns nutrientes.

Portanto, sugere-se que em trabalhos futuros sejam realizados testes bioquímicos na cultura bacteriana para identificar o potencial da *B. amyloliquefaciens* VR002 na produção de AIA, fixação biológica do nitrogênio, solubilização do fosfato, sideróforos e na enzima ACC deaminase, assim como foram realizados nos trabalhos de Nautyial *et al.* (2013), Albuquerque (2017) e Masmoudi *et al.* (2021).

5.3.2. Massa fresca e massa seca

A massa fresca e seca também foram aferidas, afim de se perceber qual tratamento proporcionou um maior ganho na fitomassa dos tomateiros cv. Santa Cruz, 65 DAS. Foram realizadas as ANOVAs da MFR (CV = 29,93%), MFPA (CV = 13,40%), massa fresca total (MFT) (CV = 14,12%), sendo este parâmetro o somatório da MFR com MFPA. Além disso, quando as massas atingiram peso seco constante, após 96 h na estufa de circulação forçada de ar, a 85 °C, foram aferidos e realizados as ANOVAs da MSR (CV = 24,43 %), MSPA (CV = 19,16 %), e massa seca total (MST) (CV = 19,25 %), sendo esta o somatório de MSR com MSPA.

Os resultados demonstraram que todos os tomateiros tiveram os 6 parâmetros de biomassa reduzidos quando foram irrigados com 150 mM de NaCl. Além disso, para MFR, percebeu-se diferença significativa entre os tratamentos, onde todas as inoculações contribuiram igualmente para o ganho da massa fresca da raiz dos tomateiros da cv. Santa Cruz quando comparadas ao tratamento controle (AA) que apresentou a menor MFR.

Os resultados dos seis parâmetros de Fitomassa podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6: Parâmetros morfológicos da Massa Fresca da Raiz, Massa Fresca da Parte Aérea, Massa Fresca Total, Massa Seca da Raiz, Massa Seca da Parte Aérea e Massa Seca Total dos tomateiros cv. St. Cruz submetidos à estresse salino de 0 e 150 mM de NaCl e tratados com diferentes inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002.

	MFR (g)		MFPA (g)		MFT (g)	
Tratamentos	0	150	0	150	0	150
AA	0,44 ± 0,24	0,18 ± 0,06	4,83 ± 1,6	4,46 ± 0,6	5,26 ± 1,71	4,70 ± 0,63
AB	0,70 ± 0,50	0,36 ± 0,08	5,27 ± 0,7	4,69 ± 0,4	5,97 ± 1,04	5,19 ± 0,45
BA	0,81 ± 0,39	0,21 ± 0,08	5,58 ± 0,1	4,49 ± 0,4	6,39 ± 0,22	4,88 ± 0,42
BB	0,67 ± 0,46	0,12 ± 0,16	4,87 ± 0,7	4,15 ± 0,6	5,54 ± 0,81	4,61 ± 0,73
SA	0,94 ± 0,39	0,13 ± 0,04	5,49 ± 0,5	4,35 ± 0,3	6,43 ± 0,55	4,75 ± 0,27
SB	0,64 ± 0,34	0,10 ± 0,15	4,77 ± 0,3	3,91 ± 0,3	5,41 ± 0,35	4,26 ± 0,41
Média Geral das Doses	0,70 ± 0,17	0,18 ± 0,10	5,14 ± 0,36	4,34 ± 0,27	5,83 ± 0,51	4,73 ± 0,31
	MSR (g)		MSPA (g)		MST (g)	
	0	150	0	150	0	150
AA	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,37 ± 0,2	0,36 ± 0,08	0,42 ± 0,18	0,39 ± 0,09
AB	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,00	0,41 ± 0,1	0,40 ± 0,03	0,47 ± 0,10	0,44 ± 0,03
BA	0,07 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,47 ± 0,0	0,38 ± 0,04	0,55 ± 0,04	0,42 ± 0,05
BB	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,39 ± 0,1	0,33 ± 0,09	0,44 ± 0,09	0,38 ± 0,11
SA	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,46 ± 0,1	0,33 ± 0,02	0,54 ± 0,07	0,37 ± 0,02
SB	0,05 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,35 ± 0,0	0,28 ± 0,03	0,40 ± 0,03	0,31 ± 0,03
Média Geral das Doses	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,41 ± 0,05	0,35 ± 0,04	0,47 ± 0,06	0,39 ± 0,05

AA - água na semente e água no colo da planta (controle); AB - água na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta; BA - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e água no colo da planta; BB - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e no colo da planta; SA - sobrenadante na semente e água no colo da planta; e SB sobrenadante na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta. Cada coluna representa ± desvio padrão amostral da média de 4 repetições.

Gowtham *et al.* (2020), Khan *et al.* (2020) e Vaishnav *et al.* (2020), ao trabalharem com estresses abióticos de seca, altas temperaturas e salinidade, respectivamente, também observaram essa diminuição na massa fresca e seca dos tomateiros, logo, este é um padrão normal que acontece quando as plantas são estressadas. Porém, após o estresse, as plantas tratadas com *B. cereus* tiveram a MFPA, MFR e MSR mais altas do que aquelas sem a inoculação da bactéria (KHAN *et al*., 2020), as plantas tratadas com *Sphingobacterium* BHU-AV3, apresentaram biomassa melhores (VAISHNAV *et al.* 2020) e as plantas tratadas com *B. subtilis* Rhizo SF 48, demonstraram MFPA e MSPA melhores (GOWTHAM *et al.* 2020).

No atual trabalho, as inoculações com *B.* amyloliquefaciens VR002 e/ou sobrenadante da cultura só auxiliaram no aumento da MFR, mas para todos os outros parâmetros de biomassa não foi possível perceber diferenças significativas. Logo, para a contribuição do peso das plantas a bactéria e seus metabólitos secundários não foram tão efetivos.

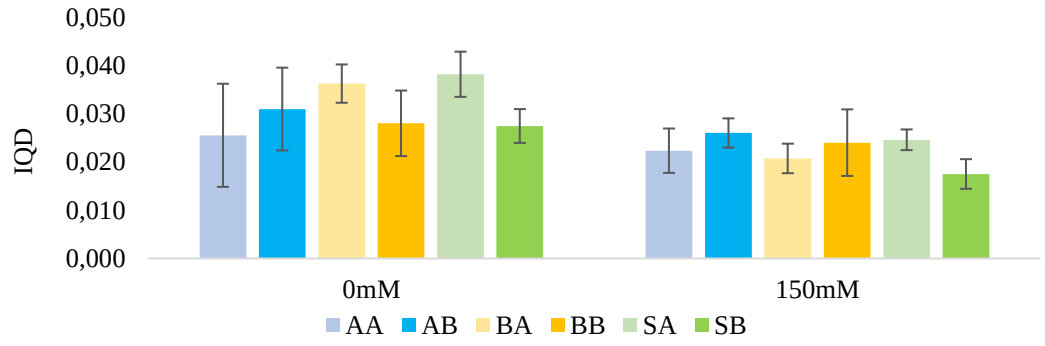
5.3.3. Relação entre os parâmetros morfológicos

Apenas os parâmetros morfológicos de forma isolada não são suficientes para chegar à interpretações completas sobre a qualidade de uma muda, logo esses parâmetros podem ser relacionados uns com os outros, para chegar à análises mais conclusivas de como o fenótipo da planta reagiu aos diferentes tratamentos (DICKSON, LEAF & HOSNER, 1960; LIN, WU & CHANG, 2019). Nesse contexto, foram avaliados como os dados morfológicos de cada planta interagiram entre si, observando o Índice de Qualidade de Dickson (IQD) (Figura 4).

Foram observado diferenças significativas ente as doses e os tratamentos (CV = 21,50%). Em relação às doses, os tomateiros que cresceram sendo irrigados com 150 mM de NaCl tiveram IQD menores, o que demonstra que o sal afetou na qualidade da muda das plantas. Em relação aos tratamentos, essa diferença não foi identificada com Scott-Knott, mas ao observar o gráfico é possível perceber que para ambas as doses, os tomateiros inoculados com sobrenadante na semente e água no colo da planta (SA) apresentaram melhores IQD, em relação ao controle AA.

Correlacionando esses dados, com aqueles obtidos ao analisar o diâmetro e o comprimento da raiz isoladamente, foi possível perceber que a forma de inoculação que mais contribuiu para os parâmetro morfológicos do tomateiro foi a SA. De todo modo, não houve diferenças expressivas desta inoculação para a melhoria dos parâmetros morfológicos em tomateiros irrigados com 150 mM de NaCl. Sendo assim, em termos gerais, as variadas inoculações não contribuiram para os ganhos morfológicos dos tomateiros, sejam aqueles que cresceram em condições normais (0 mM), como aqueles que foram estressados com NaCl.

Figura 4: Índice de Qualidade de Dickson (C) dos tomateiros cv. St. Cruz submetidos à estresse salino de NaCl e tratados com diferentes inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002.



AA - água na semente e água no colo da planta (controle); AB - água na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta; BA - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e água no colo da planta; BB - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e no colo da planta; SA - sobrenadante na semente e água no colo da planta; e SB sobrenadante na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta. Cada coluna representa ± desvio padrão amostral da média de 4 repetições.

5.4. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 E/OU SOBRENADANTE DA CULTURA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DOS TOMATEIROS 65 DIAS APÓS SEMEADURA

Os parâmetros bioquímicos são importantes de serem analisados devido ao fato deles serem sinalizadores de efeitos que ainda não são possíveis ser observados na fenologia da planta (WANG *et al.*, 2006). Por exemplo, os tratamentos não demonstraram diferenças expressivas nos parâmetros morfológicos para a promoção da halotolerância dos tomateiros, mas essas diferenças puderam ser observadas nos parâmetros bioquímicos. Logo, a seguir, serão apresentados os resultados destes parâmetros, a partir dos dados da clorofila medida com clorofilômetro, dos pigmentos fotossintéticos, do conteúdo de malondialdeído e aldeído, do extravasamento de eletrólitos e do teor de prolina, nas plantas de tomateiros cv. Santa Cruz 65 DAS.

5.4.1. Índice de Clorofila Falker (ICF)

O Índice de Clorofila Falker foi medido no dia da colheita dos tomateiros. Através do aparelho ClorofiLOG foi possível obter os valores de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total de todos as plantas. Esses resultado não foram homocedásticos, logo a comparação dos seus valores foi feita através da observação das médias e desvios padrões de cada planta (Tabela 7).

É possível perceber que todos os tomateiros que receberam irrigação com 150 mM de NaCl apresentaram ganhos no teor de clorofila (*Chl a*, *Chl b* e *Chl* total). Além disso, as plantas que foram inoculadas com SB, AB e BB tiveram aumento na *Chl a* e na *Chl* total em relação às plantas do controle, tanto para as doses de 0 mM de NaCl, como para as doses de 150 mM de NaCl.

Tabela 7: Índice de Clorofila Falker (ICF) nas folhas de tomateiro cv. St. Cruz submetido à estresse salino de 0 e 150 mM de NaCl e tratados com diferentes inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002.

	Clorofila *a* (ICF)		Clorofila *b* (ICF)		Clorofila total (ICF)	
Tratamentos	0	150	0	150	0	150
AA	15,3 ± 2,3	21,9 ± 1,5	3,3 ± 0,5	4,4 ± 0,5	18,6 ± 2,7	26,2 ± 1,9
AB	20,6 ± 1,5	23,5 ± 2,8	3,8 ± 0,5	4,5 ± 0,6	24,4 ± 1,7	28,0 ± 3,0
BA	18,4 ± 2,1	22,6 ± 2,9	3,4 ± 0,5	4,6 ± 1,0	21,7 ± 2,6	27,2 ± 3,9
BB	20,0 ± 1,7	24,2 ± 3,6	3,6 ± 0,6	4,6 ± 1,4	23,5 ± 2,2	28,8 ± 4,1
SA	19,7 ± 1,9	22,3 ± 2,0	3,6 ± 0,4	4,3 ± 0,7	23,3 ± 2,3	26,7 ± 2,6
SB	20,1 ± 1,1	24,4 ± 1,5	3,9 ± 0,6	4,7 ± 1,0	24,0 ± 1,5	29,1 ± 2,3
Média Geral das Doses	19,0 ± 2,0	23,1 ± 1,0	3,6 ± 0,2	4,5 ± 0,1	22,6 ± 2,2	27,7 ± 1,1

AA - água na semente e água no colo da planta (controle); AB - água na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta; BA - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e água no colo da planta; BB - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e no colo da planta; SA - sobrenadante na semente e água no colo da planta; e SB sobrenadante na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta. Cada célula representa ± desvio padrão amostral da média de 6 repetições.

O aumento dos níveis de clorofila devido ao estresse salino também foi observado em Abacaxi (*Ananas porteanus)* (MENDES *et al*., 2011), arroz (*Oryza sativa*) (MISRA *et al*., 1997) e beterraba açucareira (*Beta vulgaris L*.) (JAMIL *et al.*, 2007). Isto pode ser associado ao estímulo do mecanismo de proteção do maquinário fotossintético das plantas, através do acréscimo no tamanho e número de cloroplasto, proporcionando mais centros de reação para transformação da energia luminosa em energia química. (SAMANIEGO-GÁMEZ *et al.*, 2016). Pode-se perceber que o tomateiro cv. St. Cruz também expressa aumento do teor de clorofila naturalmente quando exposto à salinidade.

Já no trabalho de Kim *et al.* (2017), realizado com *B. amyloliquefaciens* H-2-5 inoculadas em plantas de soja (*Glycine max*) colocadas sobre estresse salino, pode ser observado o aumento do teor de clorofila por meio das inoculações. O presente trabalho também demonstrou esses mesmos resultados quando os tomateiros foram inoculados com AB, BB, e SB, refletindo em uma melhor atividade e conservação do aparelho fotossintético em comparação com as plantas do controle.

5.4.2. Pigmentos Fotossintéticos (método espectrofotométrico)

Além da determinação do índice ICF por meio do clorofilômetro, também foi realizado a quantificação dos teores de pigmentos (µg/g) utilizando-se da extração com acetona e quantificação espectrofotométrica. A partir desse método foi obtido a clorofila *a*, *b*, total e carotenóides (Tabela 8).

A ANOVA da clorofila *a* (CV = 16,42 %) demonstrou que houve diferenças significativas para os tratamento e para as doses. Os tomateiros que tiveram o maior conteúdo deste pigmento foram aqueles inoculados com SA, BB e BA e para a clorofila total (CV = 16,09 %) o mesmo foi observado. Já para a clorofila *b* e carotenóides a média e desvio padrão foram utilizadas para comparar os valores, pois ambos não passaram no teste de homocedasticidade.

Todos os tomateiros tiveram um maior teor de clorofila *b* quando inoculados, porém algumas formas de inoculação apresentaram resultados mais expressivos. Nas plantas não estressadas, aquelas que foram inoculadas com SA (1444 µg/g), BB (1248 µg/g) e BA (1225,6 µg/g) apresentaram valores ≥ 26,2% do que as plantas controle AA (903,6 µg/g). Já as plantas irrigadas com 150 mM de NaCl, tiveram este maior pigmento quando inoculadas com BB (1946 µg/g), SA (1686 µg/g) e SB (1642 µg/g), sendo ≥ 33,4% em relação as plantas AA (1094 µg/g).

Em relação aos carotenóides, foi possível perceber que a maioria das plantas com alguma forma de inoculação teve aumento deste pigmento. Um fator que vale a pena ser

destacado é em relação às plantas tratadas com BB e estressadas com 150 mM da NaCl, que apresentaram 896,3 µg/g de carotenóides enquanto as plantas AA apresentaram 596,7 µg/g, logo está inoculação proporcionou o acréscimo de 33,4 % deste pigmento fotoprotetor.

Por fim, em relação a dose, novamente os tomateiros estressados com 150 mM de NaCl apresentaram maiores pigmentos fotossintéticos, corroborando com os dados encontrados pelo método do clorofilômetro e demonstrando a capacidade do tomateiro cv. Santa Cruz em desenvolver mecanismos de proteção ao estresse salino.

Tabela 8: Pigmentos fotossintéticos nas folhas de tomateiro cv. St. Cruz sob estresse salino de 0 e 150 mM de NaCl e tratados com diferentes inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002.

	Clorofila *a* (µg/g)		Clorofila *b* (µg/g)	
Tratamentos	0	150	0	150
AA	2339,0 ± 170	2793,4 ± 292	903,6 ± 107	1094,4 ± 167
AB	2298,7 ± 60	2677,8 ± 378	955,2 ± 56	1133,5 ± 174
BA	2642,3 ± 421	3077,9 ± 290	1225,6 ± 383	1461,4 ± 201
BB	2590,7 ± 77	3469,2 ± 1014	1248,0 ± 141	1946,4 ± 387
SA	3127,4 ± 381	3361,1 ± 677	1444,7 ± 82	1686,6 ± 484
SB	2422,9 ± 403	2895,8 ± 480	1126,1 ± 171	1642,4 ± 393
Média Geral das Doses	2570,2 ± 305	3045,9 ± 317	1150,5 ± 201	1494,1 ± 333
	Clorofila total (µg/g)		Carotenoide (µg/g)	
	0	150	0	150
AA	3242,6 ± 270	3887,8 ± 458	510,3 ± 56	596,7 ± 45
AB	3253,9 ± 48	3811,3 ± 544	531,5 ± 21	605,5 ± 82
BA	3868,0 ± 769	4539,3 ± 463	554,9 ± 56	613,0 ± 103
BB	3838,7 ± 166	5415,6 ± 1345	494,5 ± 94	896,3 ± 117
SA	4572,1 ± 402	5047,7 ± 1142	567,1 ± 165	648,0 ± 99
SB	3549,0 ± 539	4538,2 ± 566	525,6 ± 80	495,9 ± 187
Média Geral das Doses	3720,7 ± 497	4540,0 ± 629	530,7 ± 27	642,6 ± 134

AA - água na semente e água no colo da planta (controle); AB - água na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta; BA - *B. amyloliquefaciens* na semente e água no colo da planta; BB - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e no colo da planta; SA - sobrenadante na semente e água no colo da planta; e SB sobrenadante na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta. Cada célula representa ± desvio padrão amostral da média de 4 repetições.

No trabalho de Vaishnav *et al.* (2020) os tomateiros estressados com salinidade reduziram significativamente a quantidade de clorofila, já no trabalho de Albuquerque (2007), as plantas permaneceram com níveis parecidos deste pigmento. No presente trabalho as plantas aumentaram seus pigmentos fotossintéticos, isto demonstra como cada cultivar de tomateiro expressa resultados diferentes quando se relacionam com a salinidade.

De todo modo, no trabalho de Vaishnav *et al.* (2020) foi observado que a inoculação

com a *Sphingobacterium* BHU-AV3 proporcionou um aumento da clorofila total dos tomateiros estressados com 200 mM de NaCl. Taj & Challabathula *et al.* (2021) observou o aumento da clorofila *a*, *b*, total e carotenóides nos tomateiros com 0, 200 e 400 mM de NaCl, quando inoculados com a *Staphylococcus sciuri* ET101. Masmoudi *et al.* (2021) também observou acréscimo no conteúdo de clorofila *a*, *b* e carotenóides nos tomateiros estressados com salinidade quando foram inoculados com a *Bacillus spizizenii* FMH45.

Logo, todos esses resultados corroboram com o presente trabalho, onde as inoculações feitas com *Bacillus amyloliquefaciens* VR002 proporcionaram maiores níveis de clorofila *a*, *b* e total (inoculação SA, BB e BA) e maiores níveis de carotenóide (inoculação BB), demonstrando o papel dessa bactéria na proteção e aumento da fotossíntese dos tomateiros tanto em situações ótimas (0 mM de NaCl) como em estresse salino (150 mM de NaCl).

5.4.3. Conteúdo de mandolialdeído e aldeídos

O conteúdo de Malondialdeído (MDA) das plantas e de outros aldeídos foram medidos a fim de indentificar os níveis de peroxidação lipídica que sofreram as folhas de tomateiro para cada tratamento dose. Os resultados de MDA foram avaliados a partir das médias e desvios padrões, pois não passaram no teste de normalidade e homocedasticia, já o resultado dos outros aldeídos foram avaliados pela anova.

Em relação ao MDA, foi possível perceber que os menores resultados ocorreram quando as plantas não foram inoculadas, isso demonstra que para esse parâmetro a presença da *B. amyloliquefaciens* VR002 não foi suficiente para prevenir os danos na membrana lipídica. Em relação ao Aldeído (CV = 21,16%) não foi possível perceber diferença significativa entre os tratamentos a partir do teste de médias de Scott-Knott, mas ao observar o padrão dos resultados, a presença da bactéria também não conseguiu prevenir o aumento dessas susbtâncias.

Por fim, observando como as doses contribuiram com este parâmetro, os tomateiros crescidos com irrigação de 0 mM de NaCl tiveram o conteúdo de MDA e Aldeído maiores do que aqueles crescidos com irrigação de 150 mM de NaCl (Tabela 9).

Os resultados apresentados estão fora do padrão de ocorrência, visto que, na literatura costumeiramente são encontrados valores que o MDA aumenta, a medida que a dose salina cresce e no presente trabalho o contrário aconteceu. Além disso, Masmoudi *et al.* (2021) quando inoculou o tomateiro com a *Bacillus spizizenii* FMH45 percebeu que a bactéria promoveu a diminuição do MDA, comparado com as plantas estressadas no mesmo nível de sal, sem a presença desses microrganismos. Khan *et al.* (2021) observou os mesmos resultados quando

inoculou as plantas de soja com os isolados ALT29 e ALT43. Logo, em termos gerais, os presentes valores fogem dos encontrados, visto que a inoculação com a *B. amyloliquefaciens* VR002 não promoveu essa diminuição no conteúdo de MDA e aldeídos nas plantas.

Tabela 9: Conteúdo de Malondialdeído e Aldeído nas folhas dos tomateiros cv. St. Cruz submetidos à estresse salino de 0 e 150 mM de NaCl e tratados com diferentes inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002.

	Malondialdeído (nmol/g)		Aldeído (nmol/g)	
Tratamentos	0	150	0	150
AA	17,00 ± 4,6	14,58 ± 3,7	94,17 ± 19,6	67,83 ± 12,5
AB	24,48 ± 3,9	22,44 ± 4,4	106,58 ± 15,1	92,29 ± 17,2
BA	22,50 ± 3,0	20,53 ± 7,9	111,56 ± 5,9	95,55 ± 33,9
BB	24,95 ± 2,4	20,86 ± 2,5	131,67 ± 35,0	90,98 ± 16,7
SA	27,15 ± 0,6	25,31 ± 6,8	133,20 ± 27,5	101,48 ± 16,3
SB	31,46 ± 3,1	15,05 ± 10,2	125,13 ± 23,8	75,40 ± 16,2
Média Geral das Doses	24,59 ± 4,82	19,79 ± 4,21	117,05 ± 16	87,26 ± 12,9

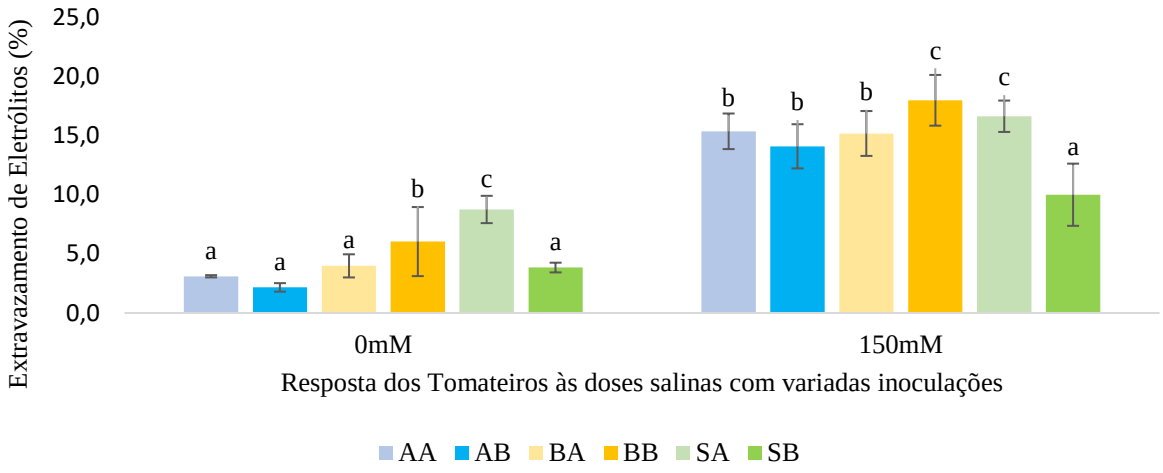
AA - água na semente e água no colo da planta (controle); AB - água na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta; BA - *B. amyloliquefaciens* na semente e água no colo da planta; BB - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e no colo da planta; SA - sobrenadante na semente e água no colo da planta; e SB sobrenadante na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta. Cada célula representa ± desvio padrão amostral da média de 4 repetições.

5.4.4. Extravazamento de Eletrólitos

O teste de extravazamento de eletrólitos também foi realizado para identificar os danos na membrana celular das plantas. Em relação aos resultados desse teste, os valores seguiram os padrões apresentados na literatura, pois foi observado que todas as plantas irrigadas com 150 mM de NaCl apresentaram maiores valores de extravazamento de eletrólitos, o que demonstra como o sal afeta a integridade das membranas (MASMOUDI *et al.*, 2021; TAJ & CHALLABATHULA *et al*., 2021).

Além disso, a partir da ANOVA foi possível perceber que as plantas tratadas com a inoculação de AB ou SB apresentaram menores valores de extravazamento de eletrólitos, ao observar as médias gerais dos tratamentos (CV = 17,17%). Porém o ponto mais importante ocorreu na interação Tratamento * Dose, onde os tomateiros irrigados com 150 mM de NaCl e inoculados com o tratamento SB apresentaram danos ~35% menores em comparação com os tomateiros controle (AA) nessa mesma dose. Logo, esta forma de inoculação proporcionou a redução significativa nos danos na membrana, como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5: Extravazamento de Eletrólitos de tomateiros cv. Santa Cruz submetidos à estresse salino de NaCl e tratados com diferentes inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002.



AA - água na semente e água no colo da planta (controle); AB - água na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta; BA - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e água no colo da planta; BB - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e no colo da planta; SA - sobrenadante na semente e água no colo da planta; e SB - sobrenadante na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta. Cada coluna representa ± desvio padrão amostral da média de 4 repetições.

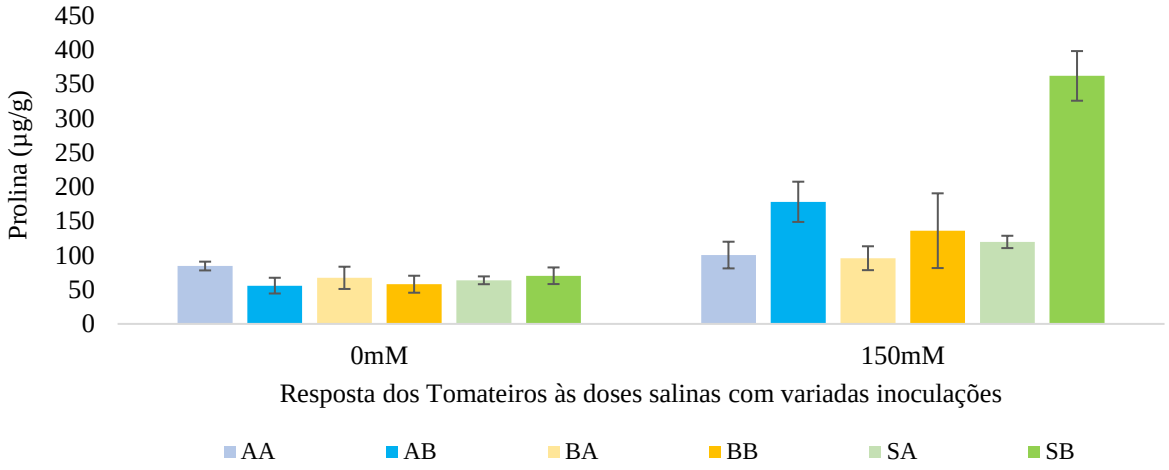
Este comportamento também foi observado nos trabalhos de Masmoudi *et al.* (2021), Taj & Challabathula *et al*. (2021), onde as bactérias que inocularam os tomateiros sob estresse salino, proporcionaram a diminuição do extravazamento de eletrólitos. Em demais estudos, também foi constatado que a inoculação com BPCVs ajudou na conservação e integridade da membrana em plantas submetidas à estresses abióticos (VURUKONDA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2019). Logo, todos estes trabalhos dão sustentação para os resultados encontrados na presente pesquisa, onde a inoculação das sementes de tomateiro com sobrenadante da *B. amyloliquefaciens* VR002 e posteriormente a inoculação da *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo das plantas promoveu um menor extravasamento de eletrólitos ao vegetal.

5.4.5. Teor de Prolina

O teor de prolina das plantas foi medido para verificar o nível desses aminoácidos responsáveis pela osmoproteção e diminuição do estresse osmótico. No presente estudo, os valores encontrados não passaram pelo teste de homocedasticidade, logo as comparações foram feitas a partir da média e desvio padrão dos resultados (Figura 6). Foi observado que todos os tomateiros que receberam irrigação com 150 mM de NaCl apresentaram teores de prolina maiores em comparação aos que receberam 0 mM de NaCl. Além disso, as plantas estressadas com 150 mM de NaCl tiveram maiores valores de prolina quando inoculadas com SB (361,82 µg/g) e posteriormente AB (178,15 µg/g), aumentando 72,2 e 43,6% o nível desse aminoácido

em relação aos tomateiros estressados com o mesmo nível de salinidade que receberam o tratamento controle (AA).

Figura 6: Teor de Prolina do tomateiros cv. Santa Cruz 65 DAS submetido à estresse salino de NaCl e tratados com diferentes inoculações advindas da *B. amyloliquefaciens* VR002.



AA - água na semente e água no colo da planta (controle); AB - água na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta; BA - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e água no colo da planta; BB - *B. amyloliquefaciens* VR002 na semente e no colo da planta; SA - sobrenadante na semente e água no colo da planta; e SB - sobrenadante na semente e *B. amyloliquefaciens* VR002 no colo da planta. Cada coluna representa ± desvio padrão amostral da média de 3 repetições.

Segundo trabalho de Iqbal *et al.* (2014), o acúmulo de prolina é um dos fatores de adaptação que as plantas utilizam para diminuir os efeitos da salinidade, estando ligado a muitas funções como a manuntenção das estruturas subcelulares de membranas e proteínas e na eliminação de radicais livres (ASHRAF; FOOLAD, 2007).

No estudo de Lima *et al.* (2004) realizado com três cultivares de arroz (*Oryza sativa*) sobre efeito do estresse salino em concentrações (0, 25, 50, 75 e 100 mM) de NaCl, as plantas apresentaram maiores valores para prolina conforme aumentava a concentração salina. Em Menezes (2017) plantas de Manjericão (*Ocimum basilicum*) induzidas ao estresse salino também apresentaram teores de prolina maiores conforme o estresse salino aumentava. Logo, esses estudos apresentaram resultados semelhantes ao da atual pesquisa.

Em Albuquerque (2017) também foram observados esses ganhos quando os tomateiros foram inoculados com isolados de *Bacillus spp.* e irrigados com 100 mM de NaCl. Taj & Challabathula (2021) também observaram esse acréscimo da prolina nas plantas de tomate estressadas com 200 mM de NaCl e inoculadas com *Staphylococcus sciuri* ET101, além disso para os tomateiros crescidos em 0 mM a presença da bactéria não demonstrou diferenças.

Logo, esses estudos dão sustentação para os resultados encontrados na pesquisa, pois as

plantas irrigadas com 0 mM de NaCl tiveram valores de prolina próximos, mas quando estressadas com 150 mM de NaCl e inoculadas com os tratamentos SB e AB demonstraram acréscimo expressivo em seus valores, demonstrando o papel da *B. amyloliquefaciens* VR002 em estimular a osmoproteção das plantas estressadas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados nesse trabalho permitiram concluir que a *Bacillus amylolquefaciens* VR002 é um microrganismo halotolerante, tolerando concentrações de 0, 250, 500, 1000 e 1500 mM de NaCl.

Para o teste de germinação, a inoculação das sementes com *B. amyloliquefaciens* VR002 ou com o sobrenadante da cultura promoveu acréscimo significativo na massa fresca da parte aérea quando as sementes germinaram no substrato de 0 mM de NaCl e a inoculação com *B. amyloliquefaciens* VR002 promoveu acréscimo signifitivo na MSR quando as sementes germinaram em 50 mM de NaCl. Nenhum outro parâmetro de germinação teve destaque significativo quando recebeu os tratamentos advindos da VR002, logo a sua atuação para germinação não foi considerada relevante.

Para os parâmetros morfológicos dos tomateios com idade de 65 dias após semeadura, as variadas formas de inoculação não apresentaram ganhos significativos quando interagiram com as doses de 0 e 150 mM de NaCl.

Para os parâmetros bioquímicos dos tomateiros com idade de 65 dias após semeadura, as plantas que foram inoculadas com SB, AB e BB tiveram aumento na clorofila *a* e na clorofila total a partir dos testes realizados com clorofilêmetro, tanto para os tomateiros sem estresse salino, como para os tomateiros irrigados com 150 mM de NaCl.

Os pigmentos fotossintéticos aferidos pelo método espectrofotométrico demonstraram que os tomateiros irrigados com 150 mM de NaCl tiveram aumento na clorofila *a* e na clorofila total quando inoculados com SA, BB e BA. A clorofila *b* apresentou aumento com os tratamentos SA, BB e SB. Já em relação ao carotenóide, todas as inoculações promoveram aumento, mas a que mais se destacou foi a BB.

Para o extravazamento de eletrólitos, as plantas irrigadas com 150 mM de NaCl e inoculadas com o tratamento SB foram aquelas que apresentaram os menores danos na membrana celular e para o teor de prolina as plantas inoculadas com os tratamentos SB e AB foram aquelas demonstraram maior osmoproteção.

Conclui-se que a inoculação com os diferentes tratamentos advindos da *B. amyloliquefaciens* VR002 contribuiu principalmente para os parâmetros bioquímicos do tomateiro cv. Santa Cruz estressados com 150 mM de NaCl, mas para os parâmetros morfológicos a bactéria não foi efetiva.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. P. S. Avaliação do potencial de uso da bactéria *bacillus amyloliquefaciens* VR002 no controle biológico de fungos toxigênicos (Dissertação, UFF), 2021.

AFZAL, I., SHINWARI, Z. K., E IQRAR, I. Selective isolation and characterization of agriculturally beneficial endophytic bacteria from wild hemp using canola. *Pak. J. Bot.* 47, (5) 1999–2008, 2015. Disponível em: <http://www.pakbs.org/pjbot/>. Acesso em: 12 out. 2020.

ALLISON, L. E.; BERNSTEIN, L.; BOWER C.A.; BROWN, J. W.; FIREMAN, M.; HATCHER, J. T.; HAYWARD, H. E.; PEARSON, G. A.; REEVE, R. C.; RICHARDS, L.A; WILCOX, L. V. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils. *United States Salinity Laboratory Staf*, 1954. Disponível em: <https://books.google.com.br/books/about/Diagnosis_and_improvement_of_saline_and.html?id=oivqg-Y_n8sC&redir_esc=y>. Acesso em: 30 jan. 2023.

AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. J. King Saud Univ. Sci. 26, 1–20, 2014. Disponível em: <ttps://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1018364713000293?token=7D19C32195587E652DFC3BEBF3D1925EF1F0CDCAD5083FD7A89B4581A4914D4F230CD2D06BDC23425837ECC3CBCA2058>. Acesso em: 12 de out. 2020.

AHMAD, M.; ZAHIR, Z.A.; NAZLI, F.; AKRAM, F.; ARSHAD, M.; KHALID, M. Effectiveness of halo-tolerant, auxin producing Pseudomonas and rhizobium strains to improve osmotic stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.). *Braz J Microbiol*, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/bjm/v44n4/45.pdf>. Acesso em: 23 out. 2020.

ALBUQUERQUE, C. A. C. Potencial de *Bacillus spp*. no controle de estresses biótico e abiótico e na promoção de crescimento de tomateiro. 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/153623>. Acesso em: 24 out. 2020.

ALI, S.; CHARLES, T.C.; GLICK, B. R. Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.80, p.160-167, 2014. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.04.003>. Acesso em: 21 out. 2020.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. A qualidade de água na agricultura. 2.ed. Campina Grande: UFPB. 153p. FAO. Estudos Irrigação e Drenagem, 1999. Disponível em: <https://www.passeidireto.com/arquivo/22929789/ayers-r-s-westcot-d-w-a-qualidade-da-agua-na-agricultura-campina-grande-ufpb-199>. Acesso em: 03 jun. 2020.

BACKER, R.; ROKEM, J.S.; ILANGUMARAN, G.; LAMONT, J.; PRASLICKOVA, D.; RICCI, E.; SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D.L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci*, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>. Acesso em: 11 out. 2020.

BAL, H. B.; NAYAK, L.; DAS, S.; ADHYA, T. K. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. PlantSoil, v.366, n.1- 2, p.93-105, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1402-5>. Acesso em: 21 out. 2020.

BANAEI-ASL, F; BANDEHAGH, A.; KOMATSU, S. Comprehensive proteomic analysis of canola leaf inoculated with a plant growth-promoting bacterium, Pseudomonas fluorescens, under salt stress. BiochimicaetBiophysica Acta (BBA) - ProteinsandProteomics, v.1864, n.9, p.1222-1236, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j. bbapap.2016.04.013>. Acesso em: 21 out. 2020.

BATISTA, M. J.; NOVAES, F.; SANTOS, D. G.; SUGUINO, H. H. Drenagem como Instrumento de Dessalinização e Prevenção da Salinização de Solos. 2.ed., rev. e ampliada. Brasília: CODEVASF, 216p. , 2002. Disponível em: <https://www.codevasf.gov.br/acesso-a-informacao/institucional/biblioteca-geraldo-rocha/publicacoes/arquivos/DrenagemcomoInstrumentodeDessalinizaoePrevenodaSalinizaodeSolos.PDF>. Acesso em: 01 jun. 2020.

BATES, L. S.; WALDERN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, The Hague, v. 39, p. 205-07, 1973. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00018060>. Acesso em: 15 out. 2020.

BETHKE, P.C.; DREW, M.C. Stomatal and non-stomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of Capsicum annuum during progressive exposure to NaCl salinity. Plant Physiology, Rockville, v.99, n.1, p.219–226, 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16668853/>. Acesso em: 01 jun. 2020.

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, v.9, n.7, p. 1055-1066, 1997.

BHERING, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v.17: 187-190p, 2017.

BIRCH, P R J, KAMOUN S. Studying interaction transcriptomes: coordinated analyses of gene expression during plant-microorganism interactions. En Wood R. (ed.) New technologies for life sciences: a trends guide. Elsevier Science, New York, N.Y. p. 77-82, 2000. Disponível em: <https://kamounlab.dreamhosters.com/pdfs/TPS_2000.pdf>. Acesso em: 05 fev. 2023.

BIZZO, A. L. T., INTORNE, A. C., GOMES, P. H., SUZUKI, M. S., & ESTEVES, B. D. S. Short-term physiological responses to copper stress in *Salvinia auriculata Aubl. Acta Limnologica Brasiliensia*, 26(3), 268-277. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S2179-975X2014000300006>. Acesso em: 13 dez. 2022.

BLANCO, F. F. Tolerância no tomateiro á salinidade sob fertirrigação e calibração de medidores de íons específicos para determinação de nutrientes na solução do solo e na planta. 2004. 96 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Irrigação e Drenagem)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004. Disponível em: < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11143/tde-26072004-144441/publico/flavio.pdf>. Acesso em: 15 out. 2020.

BRASIL, 2004. Decreto 4.954, de 14 de janeiro de 2004. Disponivel em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2004/decreto/d4954.htm>. Acesso em: 6 jul. 2020.

BRASIL, 2011. Instrução Normativa SDA Nº 13, De 24 De Março De 2011. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-

agricolas/fertilizantes/legislacao/in-sda-13-de-24-03-2011-inoculantes.pdf>. Acesso em: 02 de out. 2020.

CARDOSO, B. C. Produtividade e qualidade de tomate com um e dois cachos em funçãoda densidade de plantio, em hidroponia. Viçosa - Minas Gerais, 49 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 2007. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/4457/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 03 jun. 2020.

CAVALCANTE, L. F., CORDEIRO, J. C., NASCIMENTO, J. A. M., CAVALCANTE, ÍTALO H. L., & DIAS, T. J. Fontes e níveis da salinidade da água na formação de mudas de mamoeiro cv. sunrise solo. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina: UEL, v. 31, n. (4Sup1), p. 1281–1290, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n4Sup1p1281>. Acesso em: 31 jan. 2023.

CERQUEIRA, W. F., MORAIS, J. S., MIRANDA, J. S., & MELLO, I. K. S. Influência de bactérias do gênero Bacillus sobre o crescimento de feijão comum (*Phaseolus vulgaris L.*). Enciclopédia Biosfera, 11(20), pp. 82, 2015. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2015a/simposio%20agroecologia/influencia%20de%20bacterias.pdf>. Acesso em: 21 out. 2020.

CHAVES, B.L; MARTINAZZO, A. P.; COCA, B. C. C.; SOUZA, A. N.; TEODORO, C. E. S. Optimization of production and partial characterization of xylanase from a newly isolated *Bacillus amyloliquefaciens*. Ciência e Natura, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/2179460X42741>. Acesso em: 13 jan. 2023.

CHEN, L.; LIU, Y.; WU, G.; VERONICAN NJERI, K.; SHEN, Q.; ZHANG, N.; ZHANG, R. Induced maize salt tolerance by rhizosphere inoculation of Bacillus amyloliquefaciens SQR9. *Physiol Plant* 158:34–44. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.12441>. Acesso em: 17 set. 2020.

CHOWDHURY, S.P.; DIETEL, K.; RANDLER, M.; SCHIMID, M.; JUNGE, H.; BORRIS, R.; HARTMANN, A.; GROSCH, R. Effects of Bacillus amyloliquefaciens FZB42 on lettuce growth an health under pathogen pressure and its impact on the rhizosphere bacterial

community. Plos One, San Francisco, v.8, n.7, p.1-10, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23935892/>. Acesso em: 6 jun. 2020.

CHO, S-T; CHANG, H-H; EGAMBERDIEVA, D.; KAMILOVA, F.; LUTENBERG, B; KUO, C-H. Genome Analysis of Pseudomonas fluorescens PCL1751: A Rhizobacterium that Controls Root Diseases and Alleviates Salt Stress for Its Plant Host. PLoS ONE, v.10, n.10, e0140231, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140231>. Acesso em: 21 out. 2020.

COSTA, G. F; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (Carapa guianensis). 2007. Disponível em: <https://acta.inpa.gov.br/fasciculos/37-2/PDF/v37n2a08.pdf>. Acesso em: 15 out. 2020.

CRUZ, J.L.; PELACANI, C.R.; COELHO, E.F.; CALDAS R,C.; ALMEIDA, A.Q.; QUEIROZ, J.R. Influência Da Salinidade Sobre O Crescimento, Absorção E Distribuição De Sódio, Cloro E Macronutrientes Em Plântulas De Maracujazeiro-amarelo. Bragantia 65.2 275-84, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/brag/a/hHqxTXghkqFvggxtYcxkzTQ/?format=pdf >. Acesso em: 26 jan. 2023.

DALIAKOPOULOS, I.N., TSANIS, I.K., KOUTROULIS, A., KOURGIALAS, N.N., VAROUCHAKIS, A.E., KARATZAS, G.P., RITSEMA, C.J. The threat of soil salinity: a European scale review. Science of The Total Environment, v.573, p.727-739, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969716318794?via%3Dihub>. Acesso em: 25 out. 2020.

DEB, P., TRAN, D.A. & UDMALE, P.D. Assessment of the impacts of climate change and brackish irrigation water on rice productivity and evaluation of adaptation measures in Ca Mau province, Vietnam. *Theor Appl Climatol* 125, 641–656, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00704-015-1525-8>. Acesso em: 26 jan. 2023.

DE SOUZA R, AMBROSINI A, PASSAGLIA L M P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. Gen. Mol. Biol. 38: 401-409,

2015. Disponível em: <doi: 10.1590/S1415-475738420150053>. Acesso em: 05 fev. 2023.

DE-BASHAN L E, HERNANDEZ. J P, BASHAN Y. The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation – A comprehensive evaluation. Appl. Soil Ecol. 61: 171-189, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.09.003>. Acesso em: 05 fev. 2023.

DEVI K, NIDHI S, SHALINI K, DAVID K. Hydrogen cyanide producing rhizobacteria kill subterranean termite Odontotermes obesus (Rambur) by cyanide poisoning under in vitro conditions. Cur. Microbiol. 54: 74- 78, 2007. Disponível em: <doi: 10.1007/s00284-006-0473-z>. Acesso em 05 fev. 2023.

DIAS, N.S; BLANCO, F. F.; SOUZA, E. R.; FERREIRA, J.F.S; NETO, O. N. S.; QUEIROZ, T.S.R. Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. Manejo da salinidade na agricultura: Estudo básico e aplicados. Fortaleza (CE), 2ªEd. INCTSal. P. 151-162, 2016. Disponível em: <https://ppgea.ufc.br/wp-content/uploads/2018/04/manejo-da-salinidade-na-agricultura.pdf>. Acesso em: 20 out. 2020.

DIAS, N. S.; LIRA, R. B.; BRITO, R. F.; SOUSA NETO, O. N.; FERREIRA NETO, M.; OLIVEIRA, A. M.. Produção de melão rendilhado em sistema hidropônico com rejeito da dessalinização de água em solução nutritiva. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, v.14, n.7, p.755–761, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662010000700011>. Acesso em: 7 jul. 2020.

DIAZ, P.A.E. *Bacillus spp.* como promotores de crescimento na cultura do algodão. Universidade Estadual Paulista “Julho Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/153201>. Acesso em: 6 jan. 2023.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *The Forestry Chronicle*, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960. Disponível em: <https://doi.org/10.5558/tfc36010-1>. Acesso em: 21 jan. 2023.

DHOUIB, H.; ZOUARI, I.; ABDALLAH, D. B.; BELBAHRI, L.; TAKTAKA, W.; TRIKI, M.

A.; TOUNSI, S. Potential of a novel endophytic *Bacillus velezensis* in tomato growth promotion and protection against Verticillium wilt disease. *Biological Control*, v. 139, n.104092, p 1-11, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104092>. Acesso em: 12 ago. 2020.

EATON, F.M. Significance of carbonates in irrigation waters. U. S. Departament of Agriculture and Texas Agricultural Experiment Station. *Soil Science*, 69, 123-133, 1950. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00010694-195002000-00004>. Acesso em: 30 jan. 2023.

ELOI, WM.; DUARTE, SN.; SOARES, T M. Níveis de salinidade e manejo da fertirrigação sobre características do tomateiro cultivado em ambiente protegido. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, vol. 2, núm. 1, pp. 83-89, 2007. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=119017336014>. Acesso em: 24 jan. 2023.

EOL- Encyclopedia of Life. Garden Tomato Solanum lycopersicum L. 2020. Disponível em: <https://eol.org/pages/392557>. Acesso em: 25 out. 2020.

ETESAMI, H. ALIKHANI, H. A. Co-inoculation with endophytic and rhizosphere bacteria allows reduced application rates of N-fertilizer for rice plant, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.09.003>. Acesso em: 29 jan. 2023.

FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; CASAROLI, D.; SIMON, J.; NETO, D. D.; LIER, Q. J.; SANTOS, O. S.; MULLER, L. Fisiologia da Fixação Biológica do Nitrogênio em soja – revisão. *Revista da FZVA*, Uruguaiana: PUCRS, v. 14, n° 1, p. 89-106, 2007. Disponível em: <http://www.itaya.bio.br/materiais/Fixa%C3%A7%C3%A3o%20biol%C3%B3gica%20do%20nitrogenio.pdf>. Acesso em 01 de março de 2023.

FALKER. Manual Medidor Eletrônico de Teor de Clorofila clorogiLOG CFL1030. Revisão D, 2018. Disponível em: <www.falker.com.br>.

FAN, B.; CARVALHAIS, L.C.; BECKER, A.; FEDOSEYENKO, D.; VON WIREN, N.; BORRISS, R. Transcriptomic profiling of Bacillus amyloliquefaciens FZB42 in response to maize root exudates. BMC Microbiology, Londres, v.12, p.116, abr./jun., 2012. Disponível em:

<https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-12-116>. Acesso em: 06 jul. 2020.

FAO. FAO Soils Portal: Salt-affect soils. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/more-information-on-salt-affected-soils/en>. Acesso em: 12 out. 2020.

FARIAS, S. G. G; SANTOS, D. R.; FREIRE, A.L.O.; SILVA, R.B. Estresse salino no crescimento inicial e nutrição mineral de Gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunt ex Steud) em solução nutritiva. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa: SBCS, v. 33, n° 5, p. 1499-1505, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000500040>. Acesso em: 31 jan. 2023.

FAVARIN, J.L. Fluxo hídrico no sistema solo-planta-atmosfera. Água de subsolo. Correção de solo vertical versus horizontal. USP/ESALQ, 2017. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4124114/mod_resource/content/1/8aula-Fluxo%20h%C3%ADdrico.%20%C3%81gua%20subsolo.%20Preparo%20vertical..pdf>. Acesso em: 25 jan. 2023.

FENG, H., ZHANG, N., DU, W., ZHANG, H., LIU, Y., FU, R., SHAO, J., ZHANG, G., SHEN, Q., & ZHANG, R. Identification of chemotaxis compounds in root exudates and their sensing chemoreceptors in plant-growth-promoting rhizobacteria bacillus amyloliquefaciens SQR9. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *31*(10), 995–1005, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-18-0003-R>. Acesso em: 27 jan. 2023.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, R. G.; TÁVORA, F.J.A.; HERNANDEZ, F.F.F. Distribuição da matéria seca e composição química das raízes, caule e folhas de goiabeira submetida a estresse salino. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília: EMBRAPA: v. 36, n. 1, p. 79-88, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2001000100010>. Acesso em: 31 jan. 2020.

FIGUEIREDO, M.V.B.; MARTINEZ, C.R.; BURITY, H.A.; CHANWAY, C.P. Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *World J Microbiol Biotechnol* 24, 1187–1193, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9591-4>. Acesso em: 02 out. 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.
The state of the world's land and water resources for food and agriculture. 2011. Roma: FAO. 50p., 2011. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i1688e.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2020.

FONSECA, E.P.; VALÉRI, S.V.; MIGLIORANZA, E. FONSECA, N.A.N; COUTO, L. Padrão de qualidade de mudas de Trema micrantha (L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. Rev. Árvore, Viçosa. v. 26, n. 4, p. 515-523, Aug., 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-67622002000400015&script=sci_abstract&tlng=pt >. Acesso em: 08 jul. 2020.

FUKAMI, J. Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas: Estratégias de Colonização e Para Mitigação de Estresses Abióticos em Milho. Universidade Estadual de Londrina. Tese de Doutorado, 2018. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000218204>. Acesso em: 09 out. 2020.

GARCIA-AYLLON, S., & RADKE, J. Diffuse Anthropization Impacts in Vulnerable Protected Areas: Comparative Analysis of the Spatial Correlation between Land Transformation and Ecological Deterioration of Three Wetlands in Spain. ISPRS International Journal of Geo-Information, 10(9), 630, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijgi10090630>. Acesso em: 25 jan. 2023.

GARCIA, Carlos Henrique. Tabelas para classificação do coeficiente de variação. *IPEF*, 11 p., 1989. Disponível em: <https://www.ipef.br/PUBLICACOES/ctecnica/nr171.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2023.

GASPARETTO, E. C.; BRAIDA, J. A.; CARNEIRO, M.; SCARIOT, J. J.; TABOLKA, C. L.

Grau de Floculação da Argila de um Latossolo Vermelho utilizado com Lavoura e Mata Nativa. Synergismus Scyentifica, v. 04, n.1, 2009. Disponível em: <http://revistas.utfpr.edu.br/pb/index.php/SysScy/article/viewFile/622/357 >. Acesso em: 20 out. 2020.

GHAFOOR, A.; QADIR, M.; MURTAZA, G. 2004. Salt Affected Soils: Principle of Management (1st Ed.) Institute of Soil and Environmental Sciences, Uni. Agric. Faisalabad. 2004. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/297714696_Ghafoor_A_M_Qadir_and_G_Murtaza_2004_Salt-affected_soils_Principles_of_management_Allied_Book_Centre_Urdu_Bazar_Lahore_ISBN_969-547_328_p>. Acesso em: 01 jun. 2020.

GHYSELINCK, J., VELIVELLI, S. L. S., HEYLEN, K., O'HERLIHY, E., FRANCO, J., ROJAS, M. *et al.* Bioprospecting in potato fields in the Central Andean Highlands: screening of rhizobacteria for plant growth-promoting properties. Syst. Appl. Microbiol. 36, 116-127. doi: 10.1016/j.syapm.2012.11.007, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23333025/>. Acesso em: 02 jun. 2020.

GLICK B R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiol. Res. 169: 30–39, 2014. Disponível em: <doi:10.1016/j.micres.2013.09.009>. Acesso em: 05 fev. 2023.

GOWTHAM, H.G.; BRIJESH SINGH S.; MURALI M.; SHILPA N.; PRASAD, M.; AIYAZ, M.; AMRUTHESH K.N.; NIRANJANA S.R. Induction of drought tolerance in tomato upon the application of ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* Rhizo SF 48. *Microbiological Research*, v. 234, abril, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126422>. Acesso em: 01 fev. 2023.

GUILHERME, D.O.; PINHO, L.; COSTA, C. A.; ALMEIDA, A. C.; PAES, M.C. D.; RODRIGUES, R. J. A.; CAVALCANTI, T. F. M.; TELES FILHO, S.C.; MENEZES, J. B.C.; SALES, S. S. Análise sensorial e fisioquímica em frutos de tomate cereja orgânicos. Horticultura Brasileira, v.26, n.1, p.171-175, 2008. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/EventosX/Trabalhos/EV_2/A942_T1395_Comp.pdf>.

Acesso em: 6 jun. 2020.

GUPTA, R.; DUTTA, T. K.; KUNDU, S. S.; CHATTERJEE, A.; GAUTAM, M. ; SARKAR, S. Nutritional evaluation of tree leaves of Ayodhya Hills of Purulia District, West Bengal. Indian J. Anim. Nutr., 33 (4): 404-410, 2016. Disponivel em: <http://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/IJAN/article/view/78882/>. Acesso em: 06 fev. 2023.

HAN, J.S.; CHENG J.H.; YOON, T.M.; SONG, J.; RAJKARNIKAR, A.; KIM, W.G.; YOO, I.D.; YANG Y.Y., SUH J.W. Biological control agent of common scab disease by antagonistic strain Bacillus sp. sunhua. *J Appl Microbiol*, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02614.x>. Acesso em: 02 out. 2020.

HOLANDA, A. C.; SANTOS, R. V.; SOUTO, J. S.; ALVES, A. R.. Desenvolvimento inicial de espécies arbóreas em ambientes degradados por sais. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v.7, n.1, p.39-50, 2007. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/500/50007105.pdf>. Acesso em: 12 out. 2020.

HOLIDAY E. R; PREEDY, J. R. The precision of a direct-reading flame photometer for the determination of sodium and potassium in bio- logical fluids. Biochem J. , 1953. Disponível em: <https://www-ncbi-nlm-nih.ez24.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC1269223/pdf/biochemj01093-0034.pdf>. Acesso em: 23 out. 2020.

IMRAN, M.; ABO-ELYOUSR, K. A.; MOUSA, M. A.; SAAD, M. M. A study on the synergetic effect of *Bacillus amyloliquefaciens* and dipotassium phosphate on *Alternaria solani* causing early blight disease of tomato. European Journal of Plant Pathology, v. 162, n. 1, p. 63-77, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02384-8>. Acesso em: 18 fev. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - LSPA. Rio de Janeiro. v.30, n.4 p.1-84, 2017. Disponívelem:<ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agrico la_%5Bmensal%5D/Fasciculo/2017/lspa_201701.pdf>. Acesso em: 06 jun. 2020.

IRIZARRY, I.; WHITE, J.F. Application of bacteria from non-cultivated plants to promote growth, alter root architecture and alleviate salt stress of cotton. Journal of Applied Microbiology. Albuquerque. v.16. p.1364-5072, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/313370480_Application_of_bacteria_from_non-cultivated_plants_to_promote_growth_alter_root_architecture_and_alleviate_salt_stress_of_cotton>. Acesso em: 24 out. 2020.

JIAO, R.; MUNIR, S.; HE, P.; YANG, H.; WU, Y.; WANG, J.; HE, P.; CAI, Y.; WANG, G.; HE, Y. Biocontrol potential of the endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* YN201732 against tobacco powdery mildew and its growth promotion. Biological Control, v. 143, p. 104160, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104160>. Acesso em: 18 fev. 2023.

KANZARI, S.; HACHICHA, M.; BOUHLILA, R; BATTLE-SALES, J. Characterization and modeling of water movement and salts transfer in a semi-arid region of Tunisia (Bou Hajla, Kairouan) - Salinization risk of soils and aquifers. Computers and Electronics in Agriculture, v.86, p.34-42, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168169911002134>. Acesso em: 25 out. 2020.

KHAN, M. A., ASAF, S., KHAN, A. L., JAN, R., KANG, S.-M., KIM, K.-M., LEE, I.-J. Extending thermotolerance to tomato seedlings by inoculation with SA1 isolate of *Bacillus cereus* and comparison with exogenous humic acid application. *PLOS ONE*, v.15, n.4, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232228>. Acesso em: 01 fev. 2023.

KIM, M.; RADHAKRISHNAN, R.; KANG, S.; YOU, Y.; JEONG, E.; KIM, J.; LEE, I. Plant growth promoting effect of Bacillus amyloliquefaciens H-2-5 on crop plants and influence on physiological changes in soybean under soil salinity. 2017. *Physiology Molecular Biology Plants*. London. v.23, p571-580, 2017. Disponível em: <https://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC5567710&blobtype=pd>. Acesso em: 24 out. 2020.

KOBAYASHI D Y, REEDY R M, BICK J, OUDEMANS P V. Characterization of a chitinase

gene from Stenotrophomonas maltophilia strain 34S1 and its involvement in biological control. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1047–1054, 2002. Disponível em: <doi:10.1128/AEM.68.3.1047-1054.2002>. Acesso em: 05 fev. 2023.

KUMAR A.; SINGH S.; GAURAV A.K.; SRIVASTAVA S. E VERMA, J.P. Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants. (2020). Frontiers in Microbiology. Disponível em: <doi: 10.3389/fmicb.2020.01216>. Acesso em: 27 set. 2020.

KUSHWAHA, P.; KASHYAP, P.L.; SRIVASTAVA, A.K.; TIWARI, R.K. Plant growth promoting and antifungal activity in endophytic Bacillus strains from pearl millet (Pennisetum glaucum). Braz J Microbiol. Mar; 51(1): 229-241, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31642002/>. Acesso em: 21 out. 2020.

LARCHER, Walter. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: Ed. RiMa, 2000. 531p.

LIMA, M.G.S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. Bragantia, 63 ,3, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052004000300003>. Acesso em: 08 de fevereiro de 2023.

LIN, K-H.; WU, C-W.; CHANG, Y-S. Applying Dickson quality index, chlorophyll fluorescence, and leaf area index for assessing plant quality of Pentas lanceolata. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, v. 47, n. 1, p. 169-176, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.15835/nbha47111312>. Acesso em: 21 jan. 2023.

LIU X, ZHANG H, ZHAO Y, FENG Z, LI Q, YANG H Q. Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3activation in Arabidopsis. PNAS USA 110: 15485–15490, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1304651110>. Acesso em: 05 fev. 2023.

LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de couve chinesa sob influência do teor de água, substrato e estresse salino. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, ABRATES, v. 30, n. 3, p. 079-085, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-

31222008000300011>. Acesso em: 31 jan. 2020.

LLORENTE, B. E.; ALASIA, M. A.; LARRABURU, E. E. Biofertilization with *azospirillum brasilense* improves the in vitro culture of Handroanthus ochraceus, a forest, ornamental and medicinal plant. Biotecnónica, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26255131/>. Acesso em: 12 out. 2020.

LPSN. *Genus Bacillus*. *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH*. sem data. Disponível em: <https://lpsn.dsmz.de/genus/bacillus>. Acesso em: 02 out. 2020.

LUGTENBERG B, KAMILOVA F. Plant growth-promoting rhizobacteria. Ann. Rev. Microbiol. 63: 541–556, 2009. Disponível em: <doi: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>. Acesso em: 05 fev. 2023.

LUZ, J.M.Q.; RODRIGUES, C.R.; SOUSA, V.B.F.; SOUSA, J.V.; CARVALHO, P.C.; BERTOLDO, D.L.; RODRIGUES, T.M. Níveis de Clorofila em Tomateiro em Função da Aplicação de Silicato de Potássio. *Horticultura Brasileira*, v. 27 n.2, 2009. Disponível em: <http://abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_3/Tomate_Si_Clorofila_Revisado_2_FAP.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2023.

MARQUES, E., SANTOS, D. B., SILVA, J. B. T., MARTINS, I., & MELLO, S. C. M. Avaliação do tratamento biológico com isolados de *Trichoderma spp.* na germinabilidade de sementes de feijão. Cadernos de Agroecologia. 2014. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/15907/10223>. Acesso em: 2 out. 2020.

MASMOUDI, F., TOUNSI, S., DUNLAP, C.A. *et al.* Halotolerant *Bacillus spizizenii FMH45* promoting growth, physiological, and antioxidant parameters of tomato plants exposed to salt stress. Plant Cell Rep 40, 1199–1213, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02702-8>. Acesso em: 26 jul. 2022.

MARQUES, E. C.; FREITAS, V.S.; BEZERRA, M.A.; PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E. Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento da plântula de cajueiro anão precoce. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza: UFC, v.42, n.4, p.993-999, 2011.

Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000400023>. Acesso em: 31 jan. 2023.

MAHESHWARI D K, DHEEMAN S, AGARWAL M. Phytohormone-producing PGPR for sustainable agriculture. En Maheshwari D K. (Ed.) Springer international Publishing (pp. 159–182), 2015. Disponível em: <dói:10.1007/978-3-319-24654-3-7>. Acesso em: 05 fev. 2023.

MAIA JÚNIOR, S. de O. M.; ANDRADE, J. R. de; NASCIMENTO, R. de; LIMA, R. F. de; VASCONCELOS, G. N.; TAVARES, A. J. F.; Indução de tolerância ao estresse salino em sementes de tomateiro condicionadas com ácido salicílico. Applied Research & Agrotechnology, Guarapuava-PR, v.13: e6402, 2020. Disponível em: <DOI: 10.5935/PAeT. V13. e6402>. Acesso em: 02 fev. 2023.

MARTINS, S.J.; MEDEIROS, F.H.V.; SOUZA, R.M.; FARIA, A.F.; CANCELIER, E.L.; SILVEIRA, H.R.O.; RESENDE, M.L.V.; GUILHERME, L.R.G. Common bean growth and health promoted by rhizobacteria and the contribution of magnesium to the observed responses. *Applied Soil Ecology;* vol. 87; págs. 49–55; 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.11.005 >. Acesso em: 06 fev. 2023.

MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B.R. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. 2004. *Plant Physiology and Biochemistry.* Vol. 42, Issue 6, pg. 565-572. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.05.009>. Acesso em: 21 out. 2020.

MEDEIROS, M.B.C.L.; JESUS, H.I.; SANTOS, N.F.A.; MELO, M.R.S.; SOUZA, V.Q.; BORGES, L.S.; GUERREIRO, A.C.; FREITAS, L.S. Índice De Qualidade De Dickson E Característica Morfológica De Mudas De Pepino, Produzidas Em Diferentes Substratos Alternativos. *Revista Agroecossistemas*, [S.l.], v. 10, n.1, p.159-173, 2018. ISSN 2318-0188, 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufpa.br/index.php/agroecossistemas/article/view/5124/4987>. Acesso em: 08 jul. 2020.

MENEZES, R.V. Tolerância à salinidade em manjericão sob cultivo hidropônico. Cruz das Almas, BA, pag. 112, 2017. Disponível em:

<https://www.ufrb.edu.br/pgea/images/Teses/RENATA_VELASQUES_MENESEZ.pdf>. Acesso em: 08 de fevereiro de 2023.

MEHNAZ S, LAZAROVITS G. Inoculation effects of Pseudomonas putida, Gluconacetobacter azotocaptans, and Azospirillum lipoferum on corn plant growth under greenhouse conditions. Microbiol Ecol. 51(3): 326–335, 2006. Disponível em: < doi: 10.1007/s00248-006-9039-7>. Acesso em: 05 fev. 2023.

MELLONI, R; SILVA, F. A. M.; CARVALHO, J. G. Cálcio, magnésio e potássio como amenizadores dos efeitos da salinidade sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*). *Cerne*, Lavras: UFLA, v. 6, n. 2, p. 35-40. 2000. Disponível em: <https://cerne.ufla.br/site/index.php/CERNE/article/view/496/429>. Acesso em: 31 jan.2023.

MERRICK M J. Regulation of Nitrogen Fixation in Free Living Diazotrophs. En "Genetics and Regulation of Nitrogen Fixation in Free-Living Bacteria". Klipp, W.; Masepohl, B.; Gallon, J.R. y Newton, W.E., (eds.), Volume 2 of the series Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress. pp 197-223, 2004. Disponível em: <doi: 10.1007/1-4020-2179-8_4>. Acesso em: 05 fev. 2023.

METWALIL, E. M. R.; ABDELMONEIM, T. S.; BAKHEIT, M. A.; KADASA, N. M. S. Alleviation of salinity stress in faba bean (Viciafaba L.) plants by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Omics Journal*, v.8, n.5, p.449-460, 2015. Disponível em: <https:// search.informit.com.au/documentSummary;dn=516789588261 908;res=IELHSS> . Acesso em: 21 out. 2020.

MESA, N. F. O. Avaliação do teor de clorofila em mudas de cana-de-açúcar por meio de imagens espectrais. 2018. Disponível em: <file:///C:/Users/PSB/Downloads/Mesa_NelsonFelipeOliveros_M.pdf>. Acesso em: 12 out. 2020.

MONSANTO. Quickroots. Estados Unidos. Disponível em: <http://www.monsanto.com/products/pages/quickroots-us.aspx>. Acesso em: 06 jul.2020.

MORAIS, P. B. A invisível teia da sustentabilidade através dos microrganismos. XVI Encontro Nacional dos Estudantes de Engenharia Ambiental e IV Fórum Latino-Americano de Engenharia e Sustentabilidade. 2018;

MOREIRA, A. L. L; ARAUJO, F. F. Bioprospecção de isolados de Bacillus sppcomo potenciais promotores de crescimento de Eucalyptus urograndis. Rev. Árvore,Viçosa , v. 37, n. 5, p. 933-943, Oct. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622013000500016&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 21 out. 2020.

MOTERLE, L. M.; LOPES, P.C.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas as estresse hídrico e salino. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina: ABRATES, v. 28, n°3, p. 169-176, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000300024>. Acesso em: 31 jan. 2023.

MUNNS, R. *et al*. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selections traits. Plant Soil, v. 247, n. 01, p. 93-105, 2002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228811173_Avenues_for_increasing_salt_tolerance_of_crops_and_the_role_of_physiologically_based_selection_traits>. Acesso em: 12 out. 2020.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, Hoboken: Wiley, v.25, n.2, p.239-250, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>. Acesso em: 31 jan. 2023.

MURPHY, J.F.; REDDY, M.S.; RYU, C.; KLOEPPER, J.W.; LI, R. Rhizobacteria-Mediated Growth Promotion of Tomato Leads to Protection Against Cucumber Mosaic Virus. *Phytopathology* v.93, n.10, p. 1301-7, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/phyto.2003.93.10.1301>. Acesso em: 01 fev. 2023.

NAIKA, S.; JEUDE, J. V.; GOFFAU, M.; HILMI, M.; DAM, B. V. A cultura do tomate produção, processamento e comercialização. 1. ed. Wageningen: Fundação Agromisa e CTA, 2006. 104p. Disponível em: <http://www.agromisa.org/wp- content/uploads/Agrodok-17-A-cultura-do-tomate-1.pdf>. Acesso em: 06 jun.2020.

NAAMALA, J.; MSIMBIRA, L.A; ANTAR, M.; SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D.L. Cell-Free Supernatant Obtained from a Salt Tolerant *Bacillus amyloliquefaciens* Strain Enhances Germination and Radicle Length under NaCl Stressed and Optimal Conditions. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 6, p. 788939, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.788939>. Acesso em: 18 fev. 2023.

NASCIMENTO, J. A. M; CAVALCANTE, L.F; SANTOS, P.D.; SILVA, S.A.; VIEIRA, M.S.; OLIVEIRA, A.P. Efeito da utilização de biofertilizante bovino na produção de mudas de pimentão irrigadas com água salina. *Revista Brasileira Ciências Agrárias*, Recife: UFRPE, v. 6, n. 2, p. 258-264, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i2a1069>. Acesso em: 31 jan. 2023.

NAUTIYAL, C. S.; SRIVASTAVA, S.; CHAUHAN, P. S.; SEEM, K.; MISHRA, A.; SOPORY, S. K. Plant growth-promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 modulates gene expression profile of leaf and rhizosphere community in rice during salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *66*, 1–9, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.01.020>. Acesso em: 14 de jan. 2023.

NAZIR, N., KAMILI, A. N., SHAH, D. Mechanism of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in enhancing plant growth-A Review. Int. J. Eng. Res. Manag. Technol. 8, 709-721, 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/331876132_Mechanism_of_Plant_Growth_Promoting_Rhizobacteria_PGPR_in_enhancing_plant_growth-A_Review>. Acesso em: 02 jun. 2020.

NICK, Derly; SILVA, José; BORÉM, Aluízio. *Tomate: do plantio à colheita.* Viçosa: Ed. UFV, 2018. 237p.

OBERSON A, FROSSARD E, BÜHLMANN C, MAYER J, MÄDER P, LÜSCHER A. Nitrogen fixation and transfer in grassclover leys under organic and conventional cropping systems. Plant Soil 371: 237–255, 2013. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/42952717>. Acesso em 05 de fevereiro de 2023;

OLIVEIRA, M. K. T; OLIVEIRA, F.A; MEDEIROS, J.F; LIMA, C.J.G; GUIMARÃES, I.P. Efeito de diferentes teores de esterco bovino e níveis de salinidade no crescimento inicial da mamoneira (*Ricinus communis*). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Pombal, Grupo Verde de Agroecologia e Abelhas, v. 1, n. 1, p. 68-74, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.18378/rvads.v1i1.5>. Acesso em: 31 jan. 2020.

OLIVEIRA, V. J. S; SAMPAIO, A. H. R.; FILHO, M. A. C.; OLIVEIRA, E. J; JORGE LUIZ LOYOLA DANTAS, J.L.L; DANTAS, A.C.V. Avaliação de condutância estomática e temperatura foliar em variedades de mamão submetidas a déficit hídrico. 2011. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/50453/1/Avaliacao-condutancia-MAURICIO-COELHO-FILHO-T-39.pdf >. Acesso em: 15 out. 2020.

OMER, Z., TOMBOLINI, R., BROBERG, A. GERHARDSON, B. Indole-3-acetic acid production by pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria. Plant Growth Regulation 43, 93–96, 2004. Disponível em: <https://doi-org.ez24.periodicos.capes.gov.br/10.1023/B:GROW.0000038360.09079.ad>. Acesso em: 12 out. 2020.

ONU. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. 2023. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 29 jan. 2023.

OOI, T. C.; ARIFF, A. B, HALIMI, M.S.; SHAMSUDDIN, Z.H. Gorwth kinetics of diazotrophics Bacillus sphaericus UPMB cultured using different types and concentrations of carbon and nitrogen sources. Malaysian Journal of Microbiology. 2008. Disponível em: <http://mjm.usm.my/uploads/issues/152/research4.pdf >. Acesso em: 02 out. 2020.

OTEINO N, LALLY R D, DOWLING D N. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic Pseudomonas isolates. Front. Microbiol. 6: 745, 2015. Disponível em: < https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00745>. Acesso em: 05 fev..2023.

PEREIRA, J. R. Solos salinos e sodicos. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo, 15., Campinas. Acidez e calagem no Brasil. Campinas: SBCS, p. 127-143, 1983. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/193947/1/digitalizar0027.pdf>. Acesso em: 16 set. 2020.

PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, N. *et al*. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. *Biol Fertil Soils* 51, 403–415, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00374-015-0996-1>. Acesso em: 12 out. 2020.

PIMENTEL-GOMES, F. Curso de estatística experimental. São Paulo: Esalq, 1985. 467 p.

PINTER, I. F., SALOMON, M. V., BERLI, F., BOTTINI, R., AND PICCOLI, P. Characterization of the As (III) tolerance conferred by plant growth promoting rhizobacteria to in vitro-grown grapevine. *Appl. Soil Ecol*. 109, 60-68, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.10.003 >. Acesso em: 02 jun. 2020.

QADIR, M; GHAFOOR, A.; MURTAZA, G. Amellioration strategies for saline soils: a review. *Land Degradation and Development*, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/1099-145X(200011/12)11:6<501::AID-LDR405>3.0.CO;2-S>. Acesso em: 29 jan. 2023.

QADIR, M.; STEFFENS, D.; YAN, F.; SCHUBERT, S. Sodium Removal from a Calcareous Saline-Sodic Soil through Leaching and Plant Uptake During Phytoremediation. Land Degradation and Development., v.14, p.301-307, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ldr.558>. Acesso em: 01 jun. 2020.

RANGARANJAN, S.; SALEENA, L.; NAIR, S. Diversity of Pseudomonas spp. isolated from rice rhizosphere populations grown along a salinity gradient. *Microbial Ecology*, v.43, n.2, p.280-289, 2002. Disponível em: <https://doi. org/10.1007/s00248-002-2004-1>. Acesso em: 21 out. 2020.

RAZA, W., YOUSAF, S., RAJER, F. U. Plant growth promoting activity of volatile organic compounds produced by biocontrol strains. *Sci. Lett*. 4, 40–43, 2016. Disponível m: <http://thesciencepublishers.com/science_letters/files/6-v4i1-2016036-SL.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2023.

RIBEIRO, M. R.; BARROS, M.F.C.; FREIRE, M.B. Química dos solos salinos e sódicos. In: MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. F. Química e mineralogia do solo. Conceitos Básicos e

Aplicações. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p. 1145-1180, 2019. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/571361475/Quimica-e-Mineralogia-Do-Solos-SBCS#>. Acesso em: 04 fev. 2020.

RIBEIRO, M. R; FILHO, M. R. R; JACOMINE. P. K. T. Origem e Classificação dos Solos Afetados por Sais. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.). Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados. Fortaleza, INCTSal. p.11-19, 2016. Disponível em: <https://ppgea.ufc.br/wp-content/uploads/2018/04/manejo-da-salinidade-na-agricultura.pdf >. Acesso em: 24 out. 2020.

ROCHA, M. Q. Crescimento, fenologia e rendimento do tomateiro cereja em cultivo hidropônico. 2009. Disponível em: <http://www.guaiaca.ufpel.edu.br/bitstream/123456789/2397/1/Dissertacao_Marcelo_%20de_%20Queiroz_%20Rocha.pdf >. Acesso em: 25 out. 2020.

RHOADES, J. S.; KANDIAH, A.; MASHALI, A. M. Uso de águas salinas para produção agrícola. Tradução de GHEYI, H. R.; SOUZA, J.; QUEIROZ, J. E. Capina Grande: UFPB, 2000, 117p.

SAHAB, S.; SUHANI, I.; SRIVASTAVA, V.; CHAUHAN, P. S.; SINGH, R. P.; PRASAD, V. Potential risk assessment of soil salinity to agroecosystem sustainability: Current status and management strategies. *Science of the Total Environment* (Vol. 764). Elsevier B.V., 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144164>. Acesso em: 25 jan. 2023.

SAINI, R., KUMAR, V., DUDEJA, S. S., AND PATHAK, D. V. Beneficial effects of inoculation of endophytic bacterial isolates from roots and nodules in chickpea. Int. J. Curr. *Microbiol. Appl. Sci*. 4, 207-221, 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/282811775_Beneficial_Effects_of_Inoculation_of_Endophytic_Bacterial_Isolates_from_Roots_and_Nodules_in_Chickpea>. Acesso em: 02 jun.2020.

SAMANIEGO-GÁMEZ, B. Y; SAMANIEGO-GÁMEZ, BY, GARRUÑA, R., TUN-SUÁREZ, JM, KANTUN-CAN, J., REYES-RAMÍREZ, A., & CERVANTES-DÍAZ, L.

Bacillus spp. inoculation improves photosystem II efficiency and enhances photosynthesis in pepper plants. Chilean journal of agricultural research, v. 76, n. 4, p. 409-416, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392016000400003 >. Acesso em: 18 fev. 2023.

SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of botany*, v. 111, n. 5, p. 743-767, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mct048>. Acesso em: 05 fev. 2023.

SALVATI, L.; FERRARA, C. The local-scale impact of soil salinization on the socioeconomic context: An exploratory analysis in Italy. Catena, v. 127, p. 312-322, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0341816215000132>. Acesso em: 25 out. 2020.

SAPRE, S.; GONTIA-MISHRA, I.; TIWARI, S. Klebsiella sp. confers enhanced tolerance to salinity and plant growth promotion in oat seedlings (*Avena sativa*). *Micobiological Research*., 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.009>. Acesso em: 25 out. 2020.

SHAHZAD, R.; KHAN, A.L.; BILAL, S.; WAQAS, M.; KANG, S; LEE, I. Inoculation of abscisic acid-producing endophytic bacteria enhances salinity stress tolerance in *Oryza sativa. Environmental and Experimental Botany*., 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.010>. Acesso em: 13 jan. 2023.

SHEN X, HU H, PENG H, WANG W, ZHANG X. Comparative genomic analysis of four representative plant growth-promoting rhizobacteria in Pseudomonas. BMC Genomics. 14: 271, 2013. Disponível em: <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-14-271>. Acesso em: 05 fev. 2023.

SHU K, LIU X D, XIE Q, HE Z H. Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination. Mol. Plant. 9: 34-45, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.010>. Acesso em: 05 fev. 2023.

SILVA, E. N.; RIBEIRO, R.V.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of Jatropha curcas plants. Journal of Arid Environments, v.74, n. 10, p. 1130-1137, 2010. Disponível em: <https://doi-org.ez24.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.jaridenv.2010.05.036>. Acesso em: 12 out. 2020.

SILVA, M. A. P. Diversidade de rizóbios na estruturação de comunidade de plantas nativas da Floresta Atlântica, 2014. Disponível em: < http://r1.ufrrj.br/wp/ppgcaf/wp-content/uploads/TESE%20FINAL.pdf>. Acesso em: 23 out. 2020.

SOBRAL, L. F., BARRETO, M. C. V. SILVA, A.J.; ANJOS, J. L. Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solos. *Embrapa Tabuleiros Costeiros*. 2015 Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1042994>. Acesso em: 30 jan. 2023.

SOUSA, A. B. O.; BEZERRA, M. A; FARIAS, F. C. Germinação e desenvolvimento inicial de clones de cajueiro comum sob irrigação com água salina. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande: UFCG, v.15, n.4, p.390-394, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662011000400010>. Acesso em: 31 jan.2023.

SOUZA, Y. A; PEREIRA, A.L.; SILVA, F.F.S.; RIEBEIRO-REIS, R.C.; EVANGELISTA, M.R.V.; CASTRO, R.D.; DANTAS, B.F. Efeito da salinidade na germinação de sementes e no crescimento inicial de mudas de pinhão-manso. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina: ABRATES, v. 32, n. 2, p. 083-092, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000200010>. Acesso em: 31 jan. 2023.

SPAEPEN, S., BOSSUYT, S., ENGELEN, K., MARCHAL, K.; VANDERLEYDEN, J. Phenotypical and molecular responses of Arabidopsis thaliana roots as a result of inoculation with the auxin-producing bacterium Azospirillum brasilense. Novo Fitol. 201, 850–861, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24219779/>. Acesso em: 12 out. 2020.

SUBBARAO, G. V., JOHANSEN, C. *Strategies and Scope for Improving Salinity Tolerance in Crop Plants*. *Handbook of Plant and Crop Stress*. 2ª Edição. p. 1069-1087, 1999. Disponível em: <https://nishat2013.files.wordpress.com/2013/11/handbook-of-plant-and-crop-stress-2ed-

1999.pdf >. Acesso em: 02 out. 2020.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; MÓGOR, Á. F; RUARO, L; RODER, C. *Crescimento de mudas de tomateiro (Solanum lycopersicum) estimulado pela bactéria Bacillus amyloliquefaciens subsp. Plantarum FZB42 em cultura orgânica. Rev. de Ciências Agrárias*, Lisboa, v. 38, n. 1, p. 26-33, mar. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2015000100005&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 06 jul. 2020.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J. Uso da bactéria promotora do crescimento vegetal, *Bacillus amyloliquefaciens* SUBSP. *plantarum* FZB42, no tomateiro em cultivo orgânico. (Teste, UFPR), 2016. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/44121/R%20-%20T%20-%20VIVIAN%20JASKIW%20SZILAGYI%20ZECCHIN.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. Acesso em: 06 jul. 2020.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. *Fisiologia Vegetal*. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TAJ, Z.; CHALLABATHULA, D. Protection of Photosynthesis by Halotolerant Staphylococcus sciuri ET101 in Tomato (*Lycoperiscon esculentum*) and Rice (*Oryza sativa*) Plants During Salinity Stress: Possible Interplay Between Carboxylation and Oxygenation in Stress Mitigation. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.547750>. Acesso em: 05 ago 2022.

TAO J J, CHEN H W, MA B, ZHANG W K, CHEN S Y, ZHANG J S. The Role of Ethylene in Plants Under Salinity Stress. Front. Plant Sci. 6: 1059, 2015. Disponível em: <doi:10.3389/fpls.2015.01059.>. Acesso em: 05 fev. 2023.

TEJERA-HERNÁNDEZ, B.; ROJAS-BADÍA, M. M.; HEYDRICH-PÉREZ, M. *Potencialidades del género Bacillus en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. Revista CENIC.* Ciencias. Biológicas, v. 42, n. 3, p. 131–138, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/237027215_Potencialidades_del_genero_Bacillus_en_la_promocion_del_crecimiento_vegetal_y_el_control_biologico_de_hongos_fitopat ogenos>. Acesso em:

05 jun. 2020.

TURATTO, M. F. Potencial antagônico de Pseudomonas do grupo fluorescente isolada no planalto catarinense no controle de *Ditylenchus spp.* e *Meloidogyne javanica*, (Monografia, UFSC), 2015. Acesso em: 27 jan. 2023.

UPADHYAY, S. K; SINGH, D. P. Effect of salt tolerant plant growth promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. Plant Biol. 17, 288–293, 2015. Disponível em: <doi: 10.1111/plb.12173>. Acesso em: 24 out. 2020.

VANDENBUSSCHE F, VAN DER STRAETEN D. The Role of Ethylene in Plant Growth and Development. En "Annual Plant Reviews Volume 44: The Plant Hormone Ethylene". McManus MT (Ed.), Wiley-Blackwell, Oxford, UK., 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781118223086.ch9.>. Acesso em: 05 fev. 2023.

VAISHNAV, A., SINGH, J., SINGH, P., RAJPUT, R. S., SINGH, H. B., & SARMA, B. K. *Sphingobacterium sp*. BHU-AV3 Induces Salt Tolerance in Tomato by Enhancing Antioxidant Activities and Energy Metabolism. *Frontiers in Microbiology*, v.11, abril, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00443>. Acesso em: 01 fev. 2023.

WALTER, J.; LÜCK, E.; BAURIEGEL, A.; FACKLAM, M.; ZEITZ, J. Seasonal dynamics of soil salinity in peatlands: A geophysical approach. Geoderma, v.310, p.1-11, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001670611731323X>. Acesso em: 25 out. 2020.

WANG, D. C., JIANG, C. H., ZHANG, L. N., CHEN, L., ZHANG, X. Y., GUO, J. H. Biofilms positively contribute to bacillus amyloliquefaciens 54-induced drought tolerance in tomato plants. International Journal of Molecular Sciences, 20 (24), 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20246271>. Acesso em: 01 ago. 2022.

WANG F, CUI X, SUN Y, DONG C H. Ethylene signaling and regulation in plant growth and stress responses. Plant Cell Rep. 32: 1099-1109, 2013. Disponível em: < doi: 10.1007/s00299-013-1421-6.>. Acesso em: 05 fev. 2023.

WANG, W. N., WANG, A. L., LIU, Y., XIU, J., LIU, Z. B., & SUN, R. Y. Effects of temperature on growth, adenosine phosphates, ATPase and cellular defense response of juvenile shrimp Macrobrachium nipponense. *Aquaculture*, 256, (1-4), p. 624-630, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.009>. Acesso em: 08 fev. 2023.

WANG, W., VINOCUR, B. & ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta 218, 1–14, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1105-5>. Acesso em: 12 out. 2020.

WANI, P.A.; KHAN, M.S.; ZAIDI, A. Effect of metal tolerant plant growth promoting Bradyrhizobium sp. (vigna) on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake by greengram plants. 2007. *Chemosphere*. Acesso em: 21 out. 2020.

WILCOX, L.V.; BLAIR, G. Y.; BOWER, C. A. Effect of bicarbonate on suitability of water for irrigation. *Soil Science*, 1954. Disponível em: <doi:10.1097/00010694-195404000-00001>. Acesso em: 31 jan. 2023.

WONG W S, TAN S N, GE L, CHEN X, YONG J W H. The importance of phytohormones and microbes in biofertilizers. In D. K. Maheshwari (Ed.), Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem. Springer International pp. 105–158, 2015. Disponível em: <doi:10.1007/978-3-319-24654-3_6>. Acesso em: 05 fev. 2023.

WORLD BANK GROUP. Agricultural land (% of land area), 2020. Disponível em: <https://data.worldbank.org/indicator/AG.LND.AGRI.ZS>. Acesso em: 12 out. 2020.

WU G, LIU X, CHEN T, XU G, WANG W, ZENG X AND ZHANG X Elevation-dependent variations of tree growth and intrinsic water-use efficiency in Schrenk spruce (Picea schrenkiana) in the western Tianshan Mountains, China. Front. Plant Sci. 6:309, 2015. Disponível em: <doi: 10.3389/fpls.2015.00309>. Acesso em: 06 fev. 2023.

XU, W., AND S. A. RUTLEDGE, Time scales of shallow-to-deep convective transition associated with the onset of Madden-Julian Oscillations, Geophys. Res. Lett., 43, 2016. Disponível em: <doi:10.1002/2016GL068269>. Acesso em: 06 fev. 2023.

XU, Z.; SHAO, J.; LI, B.; YAN, X.; SHEN, Q.; ZHANG, R. *Contribution of bacillomycin D in Bacillus amyloliquefaciens SQR9 to antifungal.* 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23160135/>. Acesso em: 6 de jul 2020.

YAHYA, A. Salinity effects on growth and on uptake and distribution of sodium and some essential mineral nutrients in sesame. *Journal of Plant Nutrition,* New York, v.21, n.7, p. 1439-1451, 1998. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01904169809365494>. Acesso em: 01 jul. 2020.

YANG, J.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C. M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, USA, v.14, n.1, p. 1-4, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19056309/>. Acesso em: 21 out. 2020.

YASIN, N.A., AKRAM, W., KHAN, W.U.; AHMAD, S.R.; AHMAD, A. & ALI, A.; Halotolerant plant-growth promoting rhizobacteria modulate gene expression and osmolyte production to improve salinity tolerance and growth in Capsicum annum L. *Environ Sci Pollut* Res 25, 23236–23250, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2381-8>. Acesso em: 14 out. 2020.

ZAIDI, S. *et al*. Significance of Bacillus subtilis strain SJ-101 as a bioinoculantor concurrent plant growth promotion and nickel accumulationin Brassica juncea. *Chemosphere.* 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.057>. Acesso em: 21 out. 2020.

ZAMAN, Mohammad; SAHID, Shabbir, A.; HENG, Lee. Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques. *International Atomic Energy Access – IAEA,* 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-96190-3>. Acesso em: 30 jan. 2023.

ZHANG, M.; ZHANG, X.; ZHANG, L.; ZENG, L.; LIU, Y.; WANG, X.; HE, P.; LI, S.; LIANG, G.; ZHOU, W.; AI, C. The stronger impact of inorganic nitrogen fertilization on soil bacterial community than organic fertilization in short-term condition. *Geoderma*, 382, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114752>. Acesso em: 29 jan. 2023.