

FERNANDA VIANA DINIZ

**POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE CACAUEIRO NA
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL**

RIO BRANCO - AC

2024

FERNANDA VIANA DINIZ

**POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE CACAUEIRO NA
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Henrique da Silva Costa

Co-orientadora: Profa. Dra. Clarice Maia Carvalho

Co-orientador: Prof. Dr. Jonny Everson Scherwinski-Pereira

RIO BRANCO - AC
2024


FERNANDA VIANA DINIZ

**POTENCIAL DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE CACAUEIRO NA
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL**


Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

APROVADA em 26 de fevereiro de 2024


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **FREDERICO HENRIQUE DA SILVA COSTA**
Data: 04/04/2024 07:29:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Dr. Frederico Henrique da Silva Costa (Presidente)
Universidade Federal do Acre

Documento assinado digitalmente
 **MARCIO DE OLIVEIRA MARTINS**
Data: 04/04/2024 12:35:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Dr. Marcio de Oliveira Martins (Membro)
Universidade Federal do Ceará

Documento assinado digitalmente
 **ROGERIO EIJI HANADA**
Data: 05/04/2024 08:40:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Rogério Eiji Hanada (Membro)
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Documento assinado digitalmente
 **MARIA CAROLINA QUECINE VERDI**
Data: 09/04/2024 12:00:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Maria Carolina Quecine Verdi (Membro)
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
– Universidade de São Paulo

Documento assinado digitalmente
 **JOSIMAR BATISTA FERREIRA**
Data: 09/04/2024 12:18:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Josimar Batista Ferreira (Membro)
Universidade Federal do Acre

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

D585p Diniz, Fernanda Viana, 1996 -

Potencial de bactérias endofíticas isoladas de cacauero na promoção de crescimento vegetal / Fernanda Viana Diniz; orientador: Prof. Dr. Frederico Henrique da Silva Costa, coorientadores: Profa. Dra. Clarice Maia Carvalho, Prof. Dr. Jonny Everson Scherwinski-Pereira. – 2024.
128 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal. Rio Branco, 2024.
Inclui referências bibliográficas.

1. Cacau. 2. Bactérias endofíticas - Isoladas. 3. Soja. I. Costa, Frederico Henrique da Silva, 1982 -. II. Carvalho, Clarice Maia, 1978 -. III. Scherwinski-Pereira, Jonny Everson, 1970 -. IV. Título.

CDD: 338.1

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado coragem e força durante toda a minha jornada acadêmica e por permitir a conclusão desta etapa em minha vida.

À minha família, em especial à minha querida e amada mãe, Genedite Viana, por ser meu alicerce e maior exemplo de força. Obrigada por sempre ser minha maior incentivadora.

Ao meu amado pai Luziano Lopes que hoje não está mais presente, mas que sempre investiu em minha educação e acreditou em mim.

Ao meu orientador Dr. Frederico Henrique por ser um excelente profissional e ter acreditado e confiado a mim a execução deste trabalho. Obrigada por compartilhar seus conhecimentos e por ser paciente durante todo este período.

À professora Dr^a Clarice Maia por ser minha “mãe” científica e ter me direcionado aos caminhos da ciência desde os momentos de envolvimento em atividades técnico-científicas na Universidade Federal do Acre. Obrigada por transmitir seus conhecimentos e pela amizade que construímos ao longo desses anos.

Ao Dr. Jonny Everson por contribuir grandemente com seus conhecimentos e por ter fornecido suporte técnico e científico inúmeras vezes para execução deste trabalho.

A Dr^a Leila Peters por ser uma profissional ímpar que sempre esteve disposta a ajudar e contribuir com seus conhecimentos para execução deste trabalho.

Ao Dr. Josimar Batista por ter aberto as portas do Laboratório de Doenças de Plantas para execução deste trabalho, bem como todo o apoio técnico-científico em campo.

Ao Laboratório de Microbiologia, em especial aos amigos, Laryssa, Fernando, Daniele, Thalya, Bruno e Nárcya pela parceria e conhecimentos partilhados.

Ao meu querido esposo Marcelo Moraes por ser luz na minha vida e por sempre estar ao meu lado mesmo nos momentos mais difíceis, sempre me aconselhando e dando forças para continuar.

Ao meu querido amigo Gleison Rafael por ter trilhado comigo os caminhos da ciência, desde a época de PIBIC até o doutorado, estando presente nas batalhas e nas vitórias.

Aos amigos da pós-graduação Márcio Chaves, Bárbara Mota, Camila Freire, Kenedy, Márcia Chaves, João Paulo, Núbia Bravin, Cleverson Carvalho, Izabelle Barros e todos aqueles que fizeram desta árdua caminhada mais leve.

Aos professores do PPG Produção Vegetal por todo apoio e conhecimentos compartilhados.

Aos produtores rurais da Cooperativa Reflorestamento Econômico Consorciado e Adensado - RECA por abrirem as portas e sempre estarem disponíveis e dispostos a ajudar.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Acre (FAPAC) pelo financiamento do projeto intitulado “Bactérias endofíticas de cacau (*Theobroma cacao* L.) para promoção de crescimento vegetal e controle biológico de *Moniliophthora perniciosa*” - Edital: Edital 003/2019 FAPAC/CNPQ.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA pelo financiamento do projeto intitulado “Caracterização, avaliação e conservação ex situ de recursos genéticos de cacau (*Theobroma cacao* L.)” - (UMIPI Cacau), Embrapa Cenargen - 21195.003556/2021-21.

Ao Serviço de Apoio às Micros e Pequenas Empresas – SEBRAE por conduzir o programa Inova Amazônia, fundamental na disponibilização de recursos para a condução deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

À Universidade Federal do Acre por disponibilizar recursos para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste sonho, MUITO OBRIGADA!

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figure 1. Flowchart of article selection on the applications of PGP bacteria in agriculture and their effects on plant physiology.....39
- Figure 2. Temporal and geographic distribution of studies. (A) Percentage of articles identified by year of publication. (B) Geographic distribution of selected article.....40
- Figure 3. Plant families and species associated with PGPs bacteria. (A) Percentage of articles by plant species. (B) Percentage of articles by species of the Poaceae family. (C) Percentage of articles by species of the Fabaceae family. (D) Percentage of articles by.....42
- Figure 4. Most frequent bacterial genera and species among the articles. (A) Most frequent genres by articles. (B) Frequency of *Bacillus* species. (C) Frequency of *Pseudomonas* species.....43
- Figure 5. Biostimulant effects promoted using PGPs bacteria. (A) Frequency of articles by biostimulatory effect. (B) Relationship between the main bacterial genera and their biostimulant effects.....44
- Figure 6. Pearson correlation (ρ) of physiological variables in response to PGP bacteria.....46
- Figure 7. Principal Component Analysis (PCA) between physiological variables and bacterial genera.....48

Capítulo II

- Figura 1. Municípios de coleta de *Theobroma cacao* para isolamento de bactérias endofíticas no estado do Acre, Brasil.....85
- Figura 2. Isolamento e caracterização de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao*. (A) Isolamento de bactérias do caule. (B) Isolamento de bactérias da folha. (C) Caracterização morfológica das colônias.....86
- Figura 3. Atividades fisiológicas produzidas por bactérias endofíticas de *Theobroma cacao*. (A) Porcentagem de bactérias que apresentaram caracteres fisiológicos de promoção de crescimento vegetal direto e indireto. (B) Fixação biológica de nitrogênio. (C) Teste de antagonismo. (D) Solubilização de fosfato. (E) Produção de ácido indol-3-acético (AIA). (F) Atividade proteolítica. (G) Atividade de 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase. (H) atividade celulolítica. (I) atividade amilolítica.....95
- Figura 4. Curva padrão de AIA usada para determinar a produção ($\mu\text{g/mL}$) deste fitormônio por bactérias endofíticas.....96

Figura 5. Produção de ácido indol-3-acético ($\mu\text{g/mL}$) por bactérias endofíticas de <i>Theobroma cacao</i>	96
Figura 6. Teste de antagonismo de bactérias endofíticas de <i>Theobroma cacao</i> sobre <i>Moniliophthora perniciosa</i> . (A) Crescimento micelial do patógeno em resposta as bactérias endofíticas. (A) Placa teste do patógeno (região central) frente a bactéria 1.783 (bordas). (B) Placa controle.....	97
Figura 7. Análise de Componentes Principais (PCA) entre variáveis morfoagronômicas e isolados de bactérias endofíticas de <i>Theobroma cacao</i>	102
Figura 8. Concentração de clorofilas a e b, e carotenoides em folhas de plantas de cacaueteiro inoculadas com bactérias endofíticas. (A) Clorofila a. (B) Clorofila b. (C) Carotenóides. (D) Clorofila total. (E) Relação clorofila a/b.....	103

Capítulo III

Figura 1. Germinação (%) (A) e Índice de velocidade de germinação (B), biomassa fresca (C) e seca (D) de soja (var. Bônus) submetida a inoculação das sementes com bactérias endofíticas.....	122
Figura 2. Germinação de sementes de soja var. Bônus inoculadas com bactérias endofíticas. (A) <i>Pseudomonas putida</i> (1.845); (B) <i>Enterobacter asburiae</i> (1.923); (C) <i>Enterobacter hormaechei</i> (1.908); (D) <i>Enterobacter asburiae</i> (1.905); (E) <i>Enterobacter asburiae</i> (1.854); (F) Controle – água.....	122
Figura 3. Plantas de soja variedade Bônus inoculada e não inoculada após 30 dias em casa de vegetação. (A) isolado 1.848; (B) <i>Enterobacter hormaechei</i> (1.892); (C) <i>Pseudomonas putida</i> (1.845); (D) isolado (1.850)	124

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Table 1. Geographic distribution of studies on inoculant applications in agriculture and their effects on plant physiology, by continent and country.....40

Table 2. Use of inoculants in agriculture and their effects on plant physiology.....54

Capítulo II

Tabela 1. Crescimento micelial e percentual de inibição do patógeno no teste de antagonismo *in vitro* de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao* contra *Moniliophthora perniciosa*.....96

Tabela 2. Múltiplas características de promoção de crescimento vegetal exibidas por bactérias endofíticas de *Theobroma cacao*.....97

Tabela 3 - Identificação molecular das bactérias endofíticas utilizadas na inoculação de plantas em estufa agrícola.....98

Tabela 4. Análise morfoagronômica das variáveis altura da parte aérea (cm), área foliar (cm²), comprimento de raiz (cm) e diâmetro do colo (mm) de plantas jovens de *Theobroma cacao* inoculadas com bactérias endofíticas.....99

Tabela 5. Massa fresca e seca da parte aérea e da raiz, massa seca total e Índice de Qualidade de Dickson de plantas jovens de *Theobroma cacao* inoculadas com bactérias endofíticas..... 100

Capítulo III

Tabela 1. Efeito da inoculação de bactérias endofíticas em soja – variedade bônus nas variáveis altura (cm), comprimento da raiz (cm) e diâmetro do colo (mm) em casa de vegetação.122

Tabela 2. Efeito da inoculação de bactérias endofíticas em soja – variedade bônus nas massas frescas e secas da parte aérea e raiz em casa de vegetação.....123

LISTA DE SIGLAS

ABA	Ácido abscísico
ACC	1-aminociclopropano-1-carboxilato
AIA	Ácido indol-3-acético
ALT	Altura da parte aérea
APX	Ascorbato peroxidase
AsA	Ácido ascórbico
AUDPC	Área Sob a Curva de Progresso da Doença
CAT	Catalase
Ci	Concentração interna de CO ₂
CR	Comprimento da raiz
DC	Diâmetro do colo
EC	Eficiência de carboxilação
EiUA	Eficiência intrínseca do uso da água
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EUA	Eficiência do uso da água
GDH	Glutamato desidrogenase
GOGAT	Glutamato sintase
GPOX	Glutathione Peroxidase
GPX	Guaicol peroxidase
GR	Glutathione Redutase
GS	Glutamina sintase;
gs	Condutância estomática
GSH	Glutathione
IQD	Índice de qualidade de Dickson
LPO	Peroxidação lipídica
MDA	Malondialdeído
MFPA	Massa fresca da parte aérea
MFR	Massa fresca da raiz
MSPA	Massa seca da parte aérea
MSR	Massa seca da raiz
NADPH	Nitrato redutase
	Número de folhas
NFE	expandidas
PAL	Fenil alanina amônia liase
POD	Peroxidase
POX	Fenol peroxidase
POX	Fenol peroxidase
PPC	Fosfoenol piruvato carboxilase
PPC	Fosfoenol piruvato carboxilase
PPO	Polifenol oxidase
RUBISCO	Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase
SA	Ácido salicílico
SOD	Superóxido dismutase

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	13
GENERAL ABSTRACT	14
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE <i>Theobroma cacao</i>	17
2.2 VASSOURA DE BRUXA (<i>Moniliophthora perniciosa</i>)	19
2.3 BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS	21
2.3.1 PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS.....	22
2.3.2 CONTROLE BIOLÓGICO POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS.....	25
REFERÊNCIAS	29
3 CAPÍTULO I	34
EFFECTS ON PLANT PHYSIOLOGY IN RESPONSE TO INOCULATION OF GROWTH-PROMOTING BACTERIA: SYSTEMATIC REVIEW	34
ABSTRACT	35
3.1 INTRODUCTION	36
3.2 MATERIAL AND METHODS	37
3.3 RESULTS.....	38
3.4 DISCUSSION	47
3.5 CONCLUSIONS	52
REFERENCES	66
4 CAPÍTULO II	79
ISOLADOS DE <i>Enterobacter asburiae</i> e <i>Pseudomonas putida</i> NATIVOS DA AMAZÔNIA PROMOVEM O CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE <i>Theobroma cacao</i> L. E O ANTAGONISMO <i>IN VITRO</i> SOBRE <i>Moniliophthora perniciosa</i>	79
RESUMO	80
ABSTRACT	81
4.1 INTRODUÇÃO	82
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	83
4.2.1 Isolamento de bactérias endofíticas de <i>Theobroma cacao</i> da Amazônia.....	84
4.2.2 Caracterização morfológica de bactérias endofíticas isoladas.....	85

4.2.3 Análises de caracteres fisiológicos de promoção de crescimento vegetal direto por bactérias endofíticas.....	86
4.2.4 Análises de caracteres fisiológicos de promoção de crescimento vegetal indireto por bactérias endofíticas.....	87
4.2.5 Caracterização molecular das bactérias endofíticas com indicativo de promoção de crescimento vegetal.....	89
4.2.6 Teste de promoção de crescimento em casa de vegetação.....	90
4.2.7 Conteúdos de pigmentos fotossintéticos e carotenóides.....	92
4.2.8 Análise de dados.....	93
4.3 RESULTADOS	93
4.4 DISCUSSÃO.....	103
4.5 CONCLUSÕES	107
REFERÊNCIAS.....	108
5 CAPÍTULO III	113
<i>Pseudomonas putida</i> E <i>Enterobacter hormaechei</i> ISOLADOS DE CACAUEIROS NATIVOS DA AMAZÔNIA PROMOVEM O CRESCIMENTO EM PLANTAS DE SOJA (<i>Glycine max</i> L.)	113
RESUMO.....	114
ABSTRACT.....	115
5.1 INTRODUÇÃO	116
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	117
5.2.1 Análise de germinação de sementes de soja inoculadas.....	117
5.2.2 Análise do crescimento de soja inoculada em casa de vegetação.....	118
5.2.4 Análise de dados.....	120
5.3 RESULTADOS	120
5.4 DISCUSSÃO.....	124
5.5 CONCLUSÕES	126
REFERÊNCIAS.....	127

RESUMO GERAL

O desenvolvimento de tecnologias a partir dos recursos naturais da Amazônia constitui importante estratégia para melhoria dos sistemas de produção agrícola. Uma alternativa eficiente e promissora é o uso de bactérias endofíticas com o objetivo de melhorar a fisiologia das plantas com conseqüente promoção do crescimento e desenvolvimento vegetal. Portanto, o objetivo deste estudo foi apresentar e discutir os efeitos da inoculação de bactérias promotoras de crescimento sobre a fisiologia das plantas, e investigar o potencial de promoção de crescimento vegetal de bactérias endofíticas isoladas de matrizes de *Theobroma cacao* cultivadas na Amazônia em plantas jovens de cacaueteiro e soja. Para isso, o trabalho foi estruturado em três capítulos. O primeiro capítulo consistiu em uma revisão sistemática que teve como objetivo entender os efeitos à fisiologia da planta em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento. Foi observado que a inoculação bacteriana promove efeitos benéficos na fisiologia vegetal, pela regulação positiva do metabolismo e da fotossíntese, mediante a melhoria da condutância estomática, aumento da produção de prolina e pigmentos fotossintéticos, redução da peroxidação lipídica, aumento dos níveis nutricionais e hormonais, produção de enzimas antioxidantes e substâncias antimicrobianas, bem como aumento da expressão de genes relacionados à adaptação das plantas aos estresses ambientais. O segundo capítulo teve como objetivo analisar o potencial de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao* na promoção de crescimento em plantas jovens de cacaueteiro e avaliar o antagonismo *in vitro* sobre o patógeno *Moniliophthora perniciosa*. Foi observado que os isolados *Enterobacter asburiae* (1.923), *Enterobacter asburiae* (1.905), *Enterobacter asburiae* (1.906) e *Pseudomonas putida* (1.845) promoveram o crescimento em mudas de cacaueteiro, constatado pelo aumento da área foliar (+50,6%), massa fresca da raiz (+44,4%) e massa seca total (+43,7%). Além disso, os isolados expressaram caracteres fisiológicos de fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, produção de ácido indol-3-acético e produção de enzimas como 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase, celulase, protease e amilase. Os isolados também causaram inibição *in vitro* do patógeno *Moniliophthora perniciosa*, com redução de 61,8% do crescimento micelial do patógeno. Por fim, o terceiro capítulo avaliou o potencial de promoção de crescimento de bactérias endofíticas isoladas de cacaueteiros nativos da Amazônia na germinação e crescimento inicial da soja (*Glycine max* L.). Foram constatados, *in vitro*, aumentos significativos na porcentagem de germinação (+35,3%), índice de velocidade de germinação (+50%) e biomassa seca total (+68,4%). Os testes em casa de vegetação revelaram ainda o aumento significativo para altura da parte aérea (+47,6%), matéria fresca (+51,1%) e seca (+60,3%) da parte aérea. *Pseudomonas putida* (1.845), *Enterobacter hormaechei* (1.892) e os isolados 1.848 e 1.850 tiveram maior potencial de promoção de crescimento, por promoverem os maiores incrementos em plantas de soja inoculadas. Portanto, bactérias endofíticas isoladas de cacaueteiros nativos da Amazônia possuem potencial para promoção do crescimento em plantas jovens de cacaueteiro e soja, e podem ser recomendadas para a produção de mudas. Ademais, novos estudos devem ser conduzidos para avaliar o crescimento inicial das plantas em campo e a incorporação dessa tecnologia em cultivos dessas espécies na região Amazônica.

Palavras-chave: Amazônia; Bioinsumos; Cacau; Soja; *Enterobacter*; *Pseudomonas*.

GENERAL ABSTRACT

The development of technologies based on natural resources from the Amazon constitutes an important strategy for improving agricultural production systems. An efficient and promising alternative is the use of endophytic bacteria with the aim of improving plant physiology with consequent promotion of plant growth and development. Therefore, the objective of this study was to present and discuss the effects of inoculation of growth-promoting bacteria on plant physiology, and to investigate the plant growth-promoting potential of endophytic bacteria isolated from *Theobroma cacao* matrices cultivated in the Amazon in young plants of cocoa and soybeans. To this end, the work was structured into three chapters. The first chapter consisted of a systematic review that aimed to understand the effects on plant physiology in response to the inoculation of growth-promoting bacteria. It was observed that bacterial inoculation promotes beneficial effects on plant physiology, through the positive regulation of metabolism and photosynthesis, by improving stomatal conductance, increasing the production of proline and photosynthetic pigments, reducing lipid peroxidation, increasing nutritional and hormonal levels, production of antioxidant enzymes and antimicrobial substances, as well as increased expression of genes related to plant adaptation to environmental stresses. The second chapter aimed to analyze the potential of endophytic bacteria from *Theobroma cacao* in promoting growth in young cocoa plants and evaluate the in vitro antagonism against the pathogen *Moniliophthora perniciosa*. It was observed that the isolates *Enterobacter asburiae* (1,923), *Enterobacter asburiae* (1,905), *Enterobacter asburiae* (1,906) and *Pseudomonas putida* (1,845) promoted growth in cocoa seedlings, evidenced by the increase in leaf area (+ 50.6%), fresh root mass (+ 44.4%) and total dry mass (+ 43.7%). Furthermore, the isolates expressed physiological characters of biological nitrogen fixation, phosphate solubilization, production of indole-3-acetic acid and production of enzymes such as 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase, cellulase, protease and amylase. The isolates also caused in vitro inhibition of the pathogen *Moniliophthora perniciosa*, with a 61.8% reduction in the pathogen's mycelial growth. Finally, the third chapter evaluated the growth-promoting potential of endophytic bacteria isolated from native Amazonian cocoa trees in the germination and initial growth of soybean (*Glycine max* L.). Significant increases in germination percentage (+35.3%), germination speed index (+50%) and total dry biomass (+68.4%) were found in vitro. Greenhouse tests also revealed a significant increase in aerial part height (+47.6%), fresh matter (+ 51.1%) and dry matter (+ 60.3%) of the aerial part. *Pseudomonas putida* (1,845), *Enterobacter hormaechei* (1,892) and isolates 1,848 and 1,850 had the greatest potential for promoting growth, as they promoted the greatest increases in inoculated soybean plants. Therefore, endophytic bacteria isolated from native Amazonian cocoa trees have the potential to promote growth in young cocoa and soybean plants, and can be recommended for seedling production. Furthermore, new studies must be conducted to evaluate the initial growth of plants in the field and the incorporation of this technology in cultivation of these species in the Amazon region.

Keywords: Amazon; Bioinputs; Cocoa; Soybean; *Enterobacter*; *Pseudomonas*;

1 INTRODUÇÃO GERAL

O bioma Amazônico possui a maior biodiversidade do planeta Terra, com área de 6,7 milhões de km². Abrange nove países e 58,9% localizado no Brasil (IBGE, 2021). Esse ecossistema é fonte de sobrevivência e renda para a população local, com 22% dos estabelecimentos rurais na Amazônia provenientes da agricultura familiar, o que movimentava anualmente 28 bilhões de reais. Na Amazônia, as principais cadeias produtivas incluem a soja, milho, cacau, açaí, mandioca e banana (SERIGATI; POSSAMAI, 2021).

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é destaque na região e no mundo, e o estado do Pará é o maior produtor brasileiro de amêndoas. A produção de cacau na Amazônia é prioritariamente em Sistemas Agroflorestais (SAFs), em propriedades de agricultores familiares, nas quais 70% dos cultivos são realizados em áreas degradadas (EMBRAPA, 2022). Levando em consideração a constante demanda pelo aumento de produtividade de amêndoas para o mercado do chocolate, a cadeia produtiva do cacau ainda se depara com ameaças fitossanitárias que atingem a cultura (SIVIERO et al., 2022). Logo é percebido uma carência de tecnologias sustentáveis que possam ser inseridas no manejo da cultura e proporcionem melhorias no desenvolvimento vegetativo, produtivo e proteção da planta.

Nesse contexto, a Amazônia é fonte para pesquisas que visam o desenvolvimento de tecnologias para melhoria dos sistemas de produção agrícolas. Uma alternativa eficiente e promissora é o uso de microrganismos endofíticos, em especial bactérias, que beneficiam a fisiologia das plantas por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização de fosfato inorgânico e produção de substâncias promotoras de crescimento e desenvolvimento vegetal, como os fitormônios ácido indol-3-acético (AIA), citocininas e giberelinas. Também são capazes de promover o crescimento indireto da planta ao diminuir ou prevenir os efeitos deletérios de organismos fitopatogênicos com a produção de antibióticos, sideróforos e ácido cianídrico (HCN) (CHAUHAN et al., 2015). Por essas razões, esses microrganismos são considerados uma estratégia potencial e sustentável para reduzir os impactos que a agricultura moderna causa ao meio ambiente (ZAIDI et al., 2015). Portanto, o objetivo deste estudo foi apresentar os efeitos sobre a fisiologia da planta em resposta a inoculação de bactérias promotoras de crescimento, e investigar

o potencial de promoção de crescimento vegetal de bactérias endofíticas isoladas de matrizes de *Theobroma cacao* na Amazônia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O cacau pertence à classe Magnoliopsida, ordem Malvales, família Malvaceae, gênero *Theobroma* e espécie *Theobroma cacao*. Os botânicos acreditam que a espécie tem como berço a região Amazônica, mais precisamente nas cabeceiras do rio Amazonas, que inclui territórios do Brasil, Equador, Peru e Colômbia (DE SOUZA et al., 2018). A planta domesticada por nativos Maias e Astecas, era considerada o “alimento dos Deuses”, significado de *Theobroma*. Com a chegada dos espanhóis na América Latina e consequentemente a conquista do Império Asteca pelos espanhóis, os europeus entraram em contato pela primeira vez com a bebida produzida a partir do cacau, o “xocoatl”. Os nativos a produziam a partir de grãos de cacau após torrefação e moagem. Assim as primeiras mudas foram transportadas para outros continentes (NAIR, 2021). Dessa forma, ao longo dos séculos, o cacau foi ganhando popularidade, principalmente após a invenção da tecnologia da prensa hidráulica que permitiu que o líquido fosse separado da “massa” de cacau, viabilizando a produção dos chocolates sólidos (tabletes) (SOUZA et al., 2016).

2.1 CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE *Theobroma cacao*

Theobroma cacao é uma planta que pode atingir 5-8 m de altura e 4-6 m de diâmetro da copa, entretanto, em ambiente de floresta pode atingir até 20 m devido a competição por luz (CEPLAC, 2001). Outra característica intrínseca ao verdadeiro cacau brasileiro está na pigmentação intensa de suas sementes, apresentando cotilédones de coloração violeta escuro, forma ovóide, superfície lisa, pouco enrugada ou enrugada (BECKETT, 1994; CEPLAC, 2001).

O cacau é produzido em três sistemas de produção: (1) extrativista, (2) sombreado, em Sistemas Agroflorestais (SAFs) do tipo cabruca, consorciados ou policultivos, e (3) a pleno sol (monocultivo) (SENAR, 2018). No Brasil, mapeamento realizado pela EMBRAPA e parceiros, evidenciou que a produção de cacau na Amazônia é prioritariamente em SAFs, em propriedades de agricultores familiares, com 70% dos cultivos realizados em áreas degradadas (EMBRAPA, 2022). Esse fato foi comprovado por meio de imagens de satélites e dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE entre os anos de 2004 a 2020 onde foi possível identificar a conversão de áreas de pastagens para plantações de cacau (VENTURIERI et al.,

2022). Levando em consideração que o fruto tem proporcionado rentabilidade aos pequenos agricultores, bem como diversificação da renda por meio dos consórcios florestais, e auxiliado na redução e recuperação de áreas degradadas, trata-se de uma cadeia produtiva sustentável e bem-vista internacionalmente.

O cacau é uma *commodity* de grande importância mundial. Trata-se da matéria prima do chocolate e outros produtos como bebidas finas, sucos, sorvete e cosméticos (DE SOUZA et al., 2018). Dessa forma, movimenta um rico mercado, a qual a espécie é objeto de uma infinidade de estudos desde seus aspectos biológicos até as tecnologias que envolvem sua produção (OGUNJOBI et al., 2015; JUBY et al., 2021). Tratando-se do principal produto oriundo do cacau, o chocolate, é proveniente de três variedades: Criollo, Forastero e Trinitario. Além disso, possuem mais duas categorias de classificação, o cacau regular e de sabor fino (ALEXANDRE et al., 2015). Estudo afirma que a variedade Crioula produz o melhor chocolate devido ao sabor adocicado e menos amargo, todavia apresenta apenas 5% a 10% da produção. Assim como o crioulo, o trinitário também está no grupo de sabor fino, variando 10% a 15% da produção e ambos são utilizados em produtos mais refinados. Dessa forma, o grupo Forastero é o mais produzido, chegando a representar até 80% da indústria (RUSCONI; CONTI, 2010). Esta variedade é também chamada de cacau “a granel” devido a maior produtividade em campo, além de possuir sabor comum adequado para produção em larga escala de produtos como cacau em pó, manteiga de cacau e achocolatados (WAHYUNI et al., 2021).

Estima-se que o comércio mundial deste produto está estimado em US\$ 103 bilhões ao ano (ZION MARKET RESEARCH, 2018). Segundo a Organização Internacional do Cacau, o continente africano lidera a produção de cacau, com 75,7% da produção total. Costa do Marfim está em primeiro lugar no ranking com 39% da produção, seguido por Gana (14,5%) Indonésia (14,0%), Nigéria (6,3%), Equador (5,1%), Camarões (5,0%) e Brasil (4,6%) (FAOSTAT, 2020). Como observado, a produção ainda se concentra em países africanos subdesenvolvidos de PIB per capita baixo, onde a maioria dos produtores cultivam em propriedades pequenas de um a três hectares (WESSEL et al., 2015). O Brasil é o sétimo produtor de cacau no mundo, onde os plantios estão concentrados no Norte e Nordeste do país. O Pará é o estado com a maior produção, totalizando 233 mil toneladas de amêndoas produzidas em 2022, com média de produção em 955 kg/ha, representando 1,8 bilhões de reais em valor bruto de produção (IBGE, 2022; EMBRAPA, 2022). Ao todo, 620 mil hectares

são dedicados ao cultivo desta frutífera, onde 93 mil produtores cultivam em pequenas propriedades (TAGUCH, 2021).

A melhoria do rendimento é o principal objetivo dos países produtores de cacau. Contudo, o avançar na disseminação de doenças de importância econômica, este gargalo tem gerado preocupação entre os produtores. As doenças podem representar em perdas de até 100% da colheita. Levando em consideração que o cacau é cultivado em zonas tropicais, cuja temperatura varia de 15 a 32 °C e altitudes abaixo de 300 m, é considerado como as condições ideais para o desenvolvimento de doenças, principalmente infecção por fungos (DELGADO-OSPINA et al., 2021).

Os fungos são os principais agentes causais de doenças no cacau, destacando-se a podridão-parda (*Phytophthora* spp.), vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*), podridão-carvão (*Lasiodiplodia theobromae* e *Botryodiplodia theobromae*), rubelose (*Phanerochaete salmonicolor*), monilíase (*Moniliophthora roreri*) entre outros (DALLA PRIA et al., 1997). Ambas as doenças se mostram difíceis de detectar e gerenciar com produtos químicos.

2.2 VASSOURA DE BRUXA (*Moniliophthora perniciosa*)

A história da doença no Brasil é datada de mais de um século, onde havia sido descrita em fazendas de cacau colonizadas por portugueses na Amazônia brasileira (VIERA, 1942). Dessa forma, durante todo século XX, a Amazônia foi considerada ruim na produção de cacau e os esforços eram concentrados na Bahia. Por tais motivos, a Bahia foi o centro da indústria do cacau no Brasil resultando em altíssimas produções. Até 1970, o Brasil era o segundo maior produtor de cacau no mundo, a qual o estado baiano produzia aproximadamente 400.000 toneladas métricas do fruto ao ano (EVANS et al., 2016). Entretanto, a situação mudou após a construção da estrada Transamazônica, onde permitiu a entrada de genótipos de cacau infectado aos pólos cacauzeiros no Nordeste. O cacau resistiu somente em estágios iniciais e após 2-3 anos os plantios foram devastados pela doença (EVANS et al., 2016).

O fungo causador da vassoura de bruxa *Moniliophthora perniciosa* pertence ao filo Basidiomycota, anteriormente conhecido como *Crinipellis perniciosa*. *M. perniciosa* é denominado como fungo hemibiotrófico, ou seja, apresenta seu ciclo de vida em duas fases: biotrófica e necrotrófica. A fase biotrófica ou parasítica, os tecidos vivos são colonizados por meio do micélio monocariótico. A fase necrotrófica, o fungo

sobrevive em meio saprofítico em restos vegetais onde será produzido os basidiocarpos por meio de micélios dicarióticos (MEINHARDT et al., 2008).

A dispersão do fungo acontece com a disseminação de basidiósporos localizados em vassouras mortas a qual é favorecida pela ocorrência de chuvas. Além disso, as correntes de ar, alta umidade e temperatura baixa são outros fatores que ajudam na disseminação do patógeno, estudos demonstram que quanto maior a diferença entre a umidade relativa e a temperatura, maior a taxa e a duração da liberação de esporos. A infecção inicia quando os tubos germinativos penetram aberturas naturais da planta, como estômatos, cutículas, base de tricomas entre outras (EVANS, 2016).

Os sintomas geralmente são vistos em ramos novos, botões florais e frutos. Nos ramos, os comprimentos dos internódios são reduzidos, ocorre a deformação de folhas e dormência apical. Esta última favorece principalmente o surgimento da vassoura, devido a super brotações que ocorrem nas laterais dos ramos, devido ao alargamento das células. Em flores, a sintomatologia está na formação de frutos pequenos e deformados onde posteriormente necrosam. Os botões florais, quando afetados, produzem almofadas vegetativas e sem sementes (DALLA PRIA et al., 1997; MEINHARDT et al., 2008).

Quanto a distribuição da doença, a vassoura-de-bruxa está presente em países da América Central e América do Sul, como Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Granada, Guiana, Guiana Francesa, Panamá, Peru, Trinidad e Tobago e outros. Além disso, possui uma série de hospedeiros potenciais, como *Theobroma* spp., *Herrania* spp., *Solanum* spp. e *Bixa orellana* L. (PÉREZ-VICENTE et al., 2018). Apesar da distribuição do patógeno se concentrar nas Américas, existe uma grande preocupação com o risco dela se alastrar aos demais continentes, principalmente ao continente africano que comanda os maiores níveis de produção de cacau. Logicamente, a introdução da doença nessas regiões teria efeitos catastróficos no âmbito econômico, ambiental e social.

As ações de controle envolvem poda fitossanitária, adubações, utilização de clones, controle químico e controle biológico. Com o passar dos anos observou-se que o controle manual, através de podas, e posterior destruição de partes de plantas infectadas, era uma prática eficiente, porém extremamente onerosa (MEINHARDT et al., 2008). Fato este, demonstrado em estudo onde 95% de remoção era necessária para atingir 50% de redução na perda de vagens (RUDGARD; BUTLER, 1987).

Mesmo havendo a combinação de técnicas de manejo integrado de doenças, o patógeno *M. perniciosa* ainda demonstra mecanismos de resistência, principalmente a produtos químicos. Estudos demonstram, por exemplo, a resistência do patógenos à estrobilurinas em ambas as fases miceliares (fase biotrófica e fase necrotrófica) (THOMAZELLA et al., 2012).

Contudo, nos últimos anos tem se observado preocupação no desenvolvimento de estratégias de controle da doença para auxiliar na prevenção de surtos em plantações, bem como evitar a chegada da doença em países onde a doença não é emergente. Tais medidas tem se mostrado ainda mais necessárias ao patógeno *M. royeri*, agente causal da Monilíase que se enquadra como Praga Quarentenária presente em território brasileiro, com alto grau de destruição de plantios (SIVIERO et al., 2022).

Neste contexto, métodos alternativos e eficazes são incansavelmente buscados para o controle da doença. O controle biológico se enquadra nesses quesitos, uma vez que possui toxicidade ao organismo alvo e não gera resíduos ambientais. Além disso é um dos principais métodos utilizados no manejo integrado de doenças sendo aplicado em mais de 23 milhões de hectares (CROPLIFE, 2020). O mercado do controle biológico cresce a cada ano movimentando US\$ 5 bilhões em 2020, aumentando US\$ 2 bilhões com relação ao ano anterior. Além disso, o Brasil é destaque atingindo mais de 15% de crescimento do setor (CROPLIFE, 2020). Nesse mercado, as vendas de inoculantes formulado a partir de bactérias é destaque, onde ultrapassam a marca de 90 milhões de doses comercializadas em 2022, utilizado pelo país como estratégia chave, tanto para o controle de doenças quanto para a fertilização na agricultura (OLIVEIRA et al., 2022).

2.3 BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

Endófitos são caracterizados por colonizarem o interior de tecidos vegetais de forma assintomática em parte de seu ciclo de vida (AZEVEDO et al., 1998). Entre os microrganismos endofíticos podemos destacar as bactérias. Bactérias endofíticas fornecem inúmeros benefícios a planta hospedeira, promovendo o desenvolvimento vegetal devido ao maior fornecimento de nutrientes e hormônios vegetais, controle de estresse bióticos, abióticos e afeitos alelopáticos (ROSENBLUETH; MARTÖNEZ-ROMERO, 2006; MEI; FLINN, 2010; CIPOLLINI et al., 2012). Esta associação

benéfica permite maior sobrevivência das espécies vegetais no ambiente natural e sistemas de produção agrícola.

A colonização endofítica pode ser estabelecida de maneira local ou sistêmica, mediante a liberação pelas plantas de exsudatos no solo. Essas substâncias incluem carboidratos, lipídeos, aminoácidos, compostos fenólicos, fitossideróforos e flavonóides, estes os mais descritos. Dessa forma, auxiliam em maior atividade da microbiota em respostas a atração química. Nesse estágio, as bactérias podem ser classificadas como rizobactérias, todavia os isolados que se fixam na superfície radicular e posteriormente a colonizam por meio de aberturas ou ferimentos, iniciam o processo para se tornarem endofíticas, o que requer enzimas-chaves como endoglucanases, xilanases, celulases e pectinases (EID et al., 2021; OUKALA et al., 2021).

A taxonomia molecular classifica as bactérias endofíticas em 16 Filos e aproximadamente 200 gêneros. Contudo, os Filos de maior ocorrência são Firmicutes, Actinobacteria e Proteobacteria. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Hebaspirillum* são exemplos de gêneros bacterianos comumente isolados e utilizados na agricultura (ABO-ELYOUSR et al., 2019; LABANCA et al., 2020; HEYDARIAN et al., 2021).

2.3.1 PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

Bactérias proporcionam benefícios aos hospedeiros mediante mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento. Diretamente, a promoção de crescimento pode ser resultado da retirada de nutrientes do ambiente e sua maior disponibilidade às plantas, como observado para o nitrogênio, fósforo e ferro, ou até mesmo pela modulação dos próprios níveis de hormônios vegetais que participam da divisão, determinação e diferenciação celular como as auxinas, citocininas, etileno (SANTOYO et al., 2016). Os mecanismos de ação indiretos incluem a produção de antibióticos, enzimas de degradação de parede celular e síntese de compostos voláteis que atuam no controle pragas e patógenos (GLICK, 2020).

Os mecanismos de promoção de crescimento são relevantes para os sistemas agrícolas de produção, por minimizar custos ao reduzir o uso de fertilizantes químicos. Sabe-se que as plantas não são capazes de absorver nitrogênio (N) atmosférico, somente após a incorporação de fontes orgânicas e inorgânicas ao solo por meio de

fertilizantes nitrogenados, ou depois da transformação do N₂ em nitrogênio orgânico, mediante bactérias fixadoras de nitrogênio (KUYPERS et al., 2018). Algumas bactérias fixam até 20 a 40 kg de N₂/ha/ano, como é o caso do gênero *Azospirillum*, que também atua diretamente no crescimento de raízes (FIBACH-PALDI et al., 2012). Outros gêneros como o *Achromobacter*, *Acinetobacter* e *Burkholderia* também são reportados na fixação de N₂ com potencial de promoção de crescimento e desenvolvimento vegetal (ZHANG et al., 2017; LEITE et al., 2018).

Além do nitrogênio, outros macronutrientes essenciais as plantas como fósforo (P) e potássio (K) sofrem ação das bactérias, transformando-os em formas solúveis assimiláveis pelas plantas. O fósforo é altamente requerido por plantas, entretanto se encontra em maior parte na forma inorgânica, pois geralmente estão em complexos com íons de ferro, alumínio ou cálcio presentes no solo, impossibilitando a disponibilidade para planta (TAPIA-TORRES et al., 2016; SILVA FILHO; VIDOR, 2000). Em solos altamente intemperizados, como os latossolos, há predominância de P-inorgânico, ou seja, ligado à fração mineral com alta energia e as formas orgânicas estabilizadas física e quimicamente, sendo esta, a forma característica de 39% dos solos brasileiros (SANTOS et al., 2008; EMBRAPA, 2011).

Com base nisso, a utilização de microrganismos solubilizadores de fosfato, em especial bactérias endofíticas, transformam os compostos de P fixados ou insolúveis em formas solúveis e prontamente assimiláveis pelas plantas. Bactérias quimiorganotróficas podem assimilar fosfito (HPO₃²⁻) e oxidá-lo a fosfato no interior da célula, formando compostos orgânicos de fósforo (BINI; LOPEZ, 2016). Dessa forma, há intervenção de microrganismos, em especial bactérias endofíticas, que degradam complexos inorgânicos e favorecem o crescimento radicular, como reportado para *Aloe barbadensis* Mill., e/ou aumento na porcentagem de germinação como em *Baccharis macrantha* L. (GUPTA et al., 2012; ÁVILA MARTÍNEZ et al., 2015).

Da mesma forma acontece com o potássio (K), que apesar de estar presente em 2,5% da litosfera, o K solúvel no solo ainda é muito baixo, com 90 a 98% de reservas de K no sistema do solo em formas não trocáveis (BAGHEL et al., 2020). Tais fatos podem ser contornados com a utilização de bactérias, como é o caso de um isolado endofítico *Burkholderia* sp. FDN2-1 que se mostrou capaz de solubilizar minerais de rocha glauconita. Após a inoculação de FDN2-1 houve maior disponibilidade de fósforo e potássio após 90 dias, em relação ao controle (BAGHEL et al., 2020). O metabolismo microbiano pode atuar também na solubilização e

disponibilização de micronutrientes como boro (H_3BO_3), cobre (Cu^{2+}), molibdênio (MoO_4^{2-}) e zinco (Zn^{2+}). Maiores teores de nutrientes refletem diretamente em características agrônomicas em maior massa de frutos, aumento do diâmetro de parte aérea e raiz, maior massa fresca e seca da planta e de produtividade (RAMOS et al., 2020).

Os hormônios vegetais também são substâncias moduladas positivamente pela ação das bactérias. O ácido indol-3-acético (AIA), a auxina mais importante produzida pelas plantas, é primordial para processos básicos, como divisão, alongamento e diferenciação celular, além da embriogênese (PERROT-RECHENMANN, 2010; SELDIMIROVA et al., 2019). Trata-se de um hormônio essencial para a interação endófito-planta, por sua atuação como molécula efetora, a qual favorece a produção de exsudatos radiculares que aumentam a absorção de nutrientes e a transferência através da membrana e estimula a associação da planta hospedeira com a bactéria (AHEMAD; KIBRET, 2014). O AIA é relatado por atuar diretamente na melhora do processo fotossintético e síntese de pigmentos. Também é reportada a associação do AIA na transcrição do gene que codifica a enzima ACC sintase para a produção de ACC deaminase, a qual é uma substância que regula os níveis de etileno na planta facilitando o crescimento, principalmente na presença de estresses abióticos e bióticos (GLICK, 2015). A literatura traz inúmeros gêneros de endófitos bacterianos produtores de AIA como *Bacillus*, *Inquilinus*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Brevundimonas*, *Microbacterium*, *Streptomyces*, *Agrococcus*, *Stenotrophomonas* entre outros (AFZAL et al., 2017; KUMARAVEL et al., 2018).

Outras classes de fitohormônios como citocininas, etileno e giberelinas também podem ser positivamente regulados. A citocinina, por exemplo, é o hormônio que atua na formação de órgãos da parte aérea, regula a biossíntese de clorofila, afetando também a dominância apical, crescimento de gemas axilares e a senescência foliar. Logo, bactérias capazes de sintetizar esse hormônio tem contribuído na melhora de características agrônomicas em alface, com o aumento de 30% da massa da parte aérea e da raiz quando associado a *Bacillus subtilis* (ARKHIPOVA et al., 2005). Outro estudo com a inoculação de *B. subtilis* em *Platyclusus orientalis* foi capaz de aliviar o estresse hídrico em 10,22% interferindo na supressão do crescimento da parte aérea, demonstrando que isolados bacterianos também são capazes de reduzir danos provenientes de estresse abióticos (LIU et al., 2013).

O etileno é um hormônio relacionado ao amadurecimento e envelhecimento celular, bem como produzido em resposta a fatores estressantes como, estresse salino, hídrico e ataque de patógenos. A planta quando em associação as BPCV influenciam a homeostase do etileno afetando a expressão dos genes que o codificam ACC-sintase e ACC-oxidase para conversão do etileno (OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020). A produção de ACC deaminase é uma substância produzida por bactérias reguladora da síntese do etileno. Em plantas de trigo inoculadas com *Bacillus mojavensis*, por exemplo, refletiu no aumento da massa da raiz e da parte aérea, teor de clorofila e absorção de nutrientes (POURBABAEE et al., 2016).

Giberelinas são hormônios reguladores do desenvolvimento de órgãos reprodutivos e amadurecimento de frutas e sementes (PLACKETT; WILSON, 2016). Sua função também se relaciona à divisão celular, desenvolvimento de meristema radicular, estímulo do hipocótilo e caule (MARTÍNEZ et al., 2016). Em plantas de pimenta inoculadas com *Serratia nematodiphila* PEJ1011, por exemplo, foi possível observar a modulação positiva nos níveis de giberelinas em estresse ao frio, bem como a melhora significativa nos caracteres de crescimento como comprimento da parte aérea e raiz (KANG et al., 2015).

2.3.2 CONTROLE BIOLÓGICO POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS

O controle biológico promovido por microrganismos endofíticos fazem parte do mecanismo indireto de atuação. A antibiose, por exemplo, é a função que algumas bactérias detêm em sintetizar compostos antimicrobianos prejudicando o desenvolvimento do patógeno (LIU et al., 2017). A literatura traz exemplos de alguns gêneros como *Pseudomonas* e *Bacillus* com capacidade de produzir antibióticos, como ácido 2,4-diacetilfloroglucinol, fenazina-1-carboxamida, piroluteorina, ácido butiroaminoctona fenazina-1-carboxílico pirrolnitrina, entre outros (SANTOYO et al., 2019). *Pseudomonas fluorescens*, por exemplo, produz piroluteorina e 2,4-diacetilfloroglucinol que atuam no controle da doença podridão da raiz do tabaco, causada por *Sclerotium rolfsii* (MILNER et al., 2019).

Em trabalhos anteriores, estudando a microbiota endofítica de *Theobroma cacao* e *Theobroma grandiflorum*, foi observado que 70% dos isolados apresentaram efeito de biocontrole contra o agente causal da podridão da vagem negra,

Phytophthora palmivora. Além disso, foram capazes de reduzir de forma significativa a severidade da doença em mudas de cacauzeiro (HANADA et al., 2010). *Trichoderma* é um dos endófitos mais utilizados no controle biológico, principalmente na redução da severidade de doenças do cacauzeiro como *Phytophthora palmivora* (HANADA et al., 2008). Desse modo, é possível que a comunidade endofítica bacteriana de *T. cacao* possa conter comunidades que promovam o crescimento vegetal direto e indireto.

O controle também acontece por meio da produção de enzimas líticas. Essas enzimas atuam principalmente em patógenos fúngicos, podendo atuar diretamente na degradação da parede celular fúngica. Isso acontece, pois, a constituição celular é rica em polissacarídeos que possuem função estrutural, logo enzimas líticas que atuam nessa estrutura, causam interferência nas ligações levando a lise celular e consequentemente a morte do patógeno (JADHAV et al., 2017). Entre as enzimas produzidas podemos citar quitinases, celulasas, proteases e β -1,3-glucanases, que podem degradar a estrutura da parede celular (MOTA et al., 2017).

Outros mecanismos relacionados ao biocontrole são indução da resposta sistêmica (ISR) em plantas, produção de δ -endotoxinas, antibiose entre outras (MORALES-CEDEÑO et al., 2020). A ISR pode acontecer pela indução de elicitores produzidos pelas bactérias na planta, como compostos orgânicos voláteis, sideróforos e miRNA. Em estudo avaliando isolados de *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 para a indução de resistência sistêmica contra *Pseudomonas syringae* pv. *tomate* foi verificado que elicitores como lipopeptídeos, policetídeos, antibióticos dipeptídeos, 2,3-butanodiol e exopolissacarídeos produzidos por *B. amyloliquefaciens* induziram diferentes genes de defesa da planta (WU et al., 2018). Alterações químicas e estruturais podem ser vistas após uma ISR, como acúmulo de lignina na parede celular, ou mesmo a produção de metabólitos secundários fitoalexinas, flavonóides (PRETALI et al., 2016; SINGH et al., 2016).

A produção de δ -endotoxinas é outro importante mecanismo utilizados por algumas bactérias na defesa vegetal. O principal exemplo disso são as endotoxinas produzidas por *Bacillus thuringiensis* (Bt), como a proteína Cry (cristal). Essa proteína atua principalmente no intestino médio de hospedeiros (insetos), onde proteases degeneram a região, liberando fragmentos ativos e tóxicos que interagem com as proteínas receptoras presentes nas células intestinais do inseto (BRAVO et al., 2007). Esse mecanismo é largamente utilizado na agricultura no controle de insetos, porém

estudos apontam a eficiência em doenças com atividade antifúngica de compostos orgânicos voláteis produzidos por *Bacillus methylotrophicus* e *Bacillus thuringiensis* contra *Fusarium oxysporum*, *Botryosphaeria* sp., *Trichoderma atroviride*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Penicillium expansum* pela produção de compostos orgânicos voláteis (VOCs) (HE et al., 2020).

Sintetizar compostos antimicrobianos tem sido um mecanismo bastante usual entre os isolados bacterianas, chamado de antibiose. *Bacillus* e *Pseudomonas* são exemplos de bactérias com capacidade de produzir os antimicrobianos, como butiroaminoctona, kianoaminoctone, zimicrolactona, zimicrolactona A, aerugina, ramnolipídios, fenazina-1-carboxamida, piroluteorina, pirrolnitrina, oomicina A, viscosinamida (SANTOYO et al., 2019). A exemplo, o endófito *Pseudomonas viridiflava* foi capaz de diminuir a propagação de *Xanthomonas campestris* por meio da antibiose e ISR em canola (ROMERO et al., 2019).

Dessa forma é possível entender que bactérias endofíticas são microrganismos ricos em mecanismos que auxiliam a sobrevivência e produtividade agrícola. Logo, pesquisas que envolvam esta temática é primordial para a descobertas de novos isolados potenciais promotores de crescimento vegetal.

REFERÊNCIAS

- ABO-ELYOUSR, K. A.; KHALIL BAGY, H. M.; HASHEM, M.; ALAMRI, S. A.; MOSTAFA, Y. S. Biological control of the tomato wilt caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* using formulated plant growth-promoting bacteria. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2019.
- AFZAL, I.; IQRAR, I.; SHINWARI, Z. K.; YASMIN, A. Potencial promotor de crescimento de bactérias endofíticas isoladas de raízes de *Dodonaea viscosa* L. **Plant Growth Regulation**, v. 81, n. 3, p. 399-408, 2017.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University-Science**, v. 26, n. 1, p. 1-20, 2014.
- ALEXANDRE, R. S.; CHAGAS, K.; MARQUES, H. I.; COSTA, P. R.; CARDOSO FILHO, J. Caracterização de frutos de clones de cacauzeiros na região litorânea de São Mateus, ES. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 785-790, 2015.
- ARKHIPOVA, T. N.; VESELOV, S. U.; MELENTIEV, A. I.; MARTYNENKO, E. V.; KUDOYAROVA, G. R. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and

to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant and Soil**, v. 272, n. 1-2, p. 201-209, 2005.

ÁVILA-MARTÍNEZ, E. G.; LIZARAZO FORERO, L. M.; CORTÉS PÉREZ, F. Promoción del crecimiento de *Baccharis macrantha* (Asteraceae) con bacterias solubilizadoras de fosfatos asociadas a su rizósfera. **Acta Biologica Colombiana**, v. 20, n. 3, p. 121-131, 2015.

AZEVEDO, J. L. **Microrganismos endofíticos**. Ecologia microbiana, p. 117-137, 1998.

BAGHEL, V.; THAKUR, J. K.; YADAV, S. S.; MANNA, M. C.; MANDAL, A.; SHIRALE, A. O.; SHARMA, P.; SINHA, N. K.; MOHANTY, M.; SINGH, A. B.; PATRA, A. K. Phosphorus and potassium solubilization from rock minerals by endophytic Burkholderia sp. strain FDN2-1 in soil and shift in diversity of bacterial endophytes of corn root tissue with crop growth stage. **Geomicrobiology Journal**, v. 37, n. 6, p. 550-563, 2020.

BINI D.; LOPEZ, M. Y. Transformações microbianas do Fósforo. In: CARDOSO, I. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. Piracicaba: ESALQ, 2016. p. 149.

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERON, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, v. 49, n. 4, p. 423-435, 2007.

CHAUHAN, H.; BAGYARAJ, D. J. et al. Novel plant growth promoting rhizobacteria - Prospects and potential. **Applied Soil Ecology**, v. 95, p. 38-53, 2015.

CIPOLLINI, D.; RIGSBY, C. M.; BARTO, E. K. Microbes as targets and mediators of allelopathy in plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 6, p. 714-727, 2012.

CROPLIFE (2020). **Brasil se destaca no mercado de controle biológico**. Disponível em: <http://croplifebrasil.org/noticias/brasil-se-destaca-no-mercado-de-controle-biologico/>. Acesso em 03 mar de 2023.

DALLA PRIA, M.; CAMARGO, L. E. A.; DURANTE VÁRIOS ANOS ACREDITOU-SE, Etiologia. Doenças do Cacaueiro (*Theobroma cacao*). In: HENNIG, A. A et al. **Manual de Fitopatologia Doenças das Plantas Cultivadas**. CERES, São Paulo, p. 176-183, 1997.

DE SOUZA, P. A. MOREIRA, L. F.; SARMENTO, D. H. A.; COSTA, F. B. Cacao—*Theobroma cacao*. In: RODRIGUES, S.; SILVA, O. E.; BRITO, E. S. **Exotic Fruits**. Academic Press, 2018. p. 69-76.

DELGADO-OSPINA, J.; MOLINA-HERNÁNDEZ, J. B.; CHAVES-LÓPEZ, C.; ROMANAZZI, G.; PAPARELLA, A. The role of fungi in the cocoa production chain and the challenge of climate change. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 3, p. 202, 2021.

EID, A. M.; FOUDA, A.; ABDEL-RAHMAN, M. A.; SALEM, S. S.; ELSAIED, A.; OELMÜLLER, R.; HIJRI, M.; BHOWMIK, A.; ELKELISH, A.; HASSAN, S. E. D. Harnessing bacterial endophytes for promotion of plant growth and biotechnological applications: an overview. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 935, 2021.

EMBRAPA. **Estudo mostra expansão sustentável do cacau na Amazônia**. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/71719295/estudo-mostra-expansao-sustentavel-do-cacau-na-amazonia>. Acesso em: 24 jan. 2023.

EMBRAPA. **Os solos do Brasil**. 2011. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-solos-brasileiros/solos-do-brasil>. Acesso em: 24 jan 2023.

EVANS, H. C. Witches' broom disease (*Moniliophthora perniciosa*): History and biology. In: BAILEY, B. A.; MEINHARDT, L. W. **Cacao Diseases, A History of Old Enemies and New Encounters**. Switzerland: Springer, 2016, p. 137-177

FAOSTAT - **Food and Agriculture Organization of the United Nations. Data Production and Trade**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/>. Acesso em: 31 dez. 2020.

FIBACH-PALDI, S.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 326, n. 2, p. 99-108, 2012.

GLICK, B. R. Modulating phytohormone levels. In: GLICK, B. R. (eds). **Beneficial Plant-Bacterial Interactions**. Springer, 2020. p. 139-180.

GLICK, B. R. **Beneficial plant-bacterial interactions**. Heidelberg: Springer, 2015.

GUPTA, M.; KIRAN, S.; GULATI, A.; SINGH, B.; TEWARI, R. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. **Microbiological Research**, v. 167, n. 6, p. 358-363, 2012.

HANADA, R. E.; DE JORGE SOUZA, T.; POMELLA, A. W.; HEBBAR, K. P.; PEREIRA, J. O.; ISMAIEL, A.; SAMUELS, G. J. *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. **Mycological research**, v. 112, n. 11, p. 1335-1343, 2008.

HANADA, R. E.; POMELLA, A. W. V.; COSTA, H. S.; BEZERRA, J. L.; LOGUERCIO, L. L.; PEREIRA, J. O. Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease. **Fungal Biology**, v. 114, n. 11-12, p. 901-910, 2010.

HE, C. N.; YE, W. Q.; ZHU, Y. Y.; ZHOU, W. W. Antifungal activity of volatile organic compounds produced by *Bacillus methylotrophicus* and *Bacillus thuringiensis* against five common spoilage fungi on loquats. **Molecules**, v. 25, n. 15, p. 3360, 2020.

HEYDARIAN, Z.; GRUBER, M.; COUTU, C.; GLICK, B. R.; HEGEDUS, D. D. Gene expression patterns in shoots of *Camelina sativa* with enhanced salinity tolerance provided by plant growth promoting bacteria producing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase or expression of the corresponding *acdS* gene. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2021.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE atualiza limites de municípios no mapa da Amazônia Legal. 2021. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/30958-ibge-atualiza-limites-de-municipios-no-mapa-da-amazonia-legal>> Acesso em: 28 de janeiro de 2024.

JADHAV, H. P.; SHAIKH, S. S.; SAYYED, R. Z. Role of hydrolytic enzymes of rhizoflora in biocontrol of fungal phytopathogens: An overview. **Rhizotrophs: Plant growth promotion to bioremediation**, p. 183-203, 2017.

JUBY, B.; MINIMOL, J.S.; SUMA, B.; SANTHOSHKUMAR, A. V.; JIJI, J.; PANCHAMI, P. S. Drought mitigation in cocoa (*Theobroma cacao* L.) through developing tolerant hybrids. **BMC Plant Biology**, v. 21, n. 1, p. 1-12, 2021.

KANG, S. M.; KHAN, A. L.; WAQAS, M.; YOU, Y. H.; HAMAYUN, M.; JOO, G. J., SHAHZAD, R.; CHOI, K. S.; LEE, I. J. Gibberellin-producing *Serratia nematodiphila* PEJ1011 ameliorates low temperature stress in *Capsicum annuum* L. **European Journal of Soil Biology**, v. 68, p. 85-93, 2015.

KUMARAVEL, S.; THANKAPPAN, S.; RAGHUPATHI, S.; UTHANDI, S. Draft genome sequence of plant growth-promoting and drought-tolerant *Bacillus altitudinis* FD48, isolated from rice phylloplane. **Genome Announc.**, v. 6, n. 9, p. 19-18, 2018.

KUYPERS, M. M. M.; MARCHANT, H. K.; KARTAL, B. The microbial nitrogen-cycling network. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 5, p. 263, 2018.

LABANCA, E. R. G.; ANDRADE, S. A. L.; KURAMAE, E. E.; SILVEIRA, A. P. D. The modulation of sugarcane growth and nutritional profile under aluminum stress is dependent on beneficial endophytic bacteria and plantlet origin. **Applied Soil Ecology**, v. 156, p. 103715, 2020.

LEITE, M. C. D. B. S.; PEREIRA, A. P. D. A.; SOUZA, A. J. D.; ANDREOTE, F. D.; FREIRE, F. J.; SOBRAL, J. K. Bioprospection and genetic diversity of endophytic bacteria associated with cassava plant. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 2, p. 315-325, 2018.

LIU, F.; XING, S.; MA, H.; DU, Z.; MA, B. Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 20, p. 9155-9164, 2013.

LIU, H.; CARVALHAIS, L. C.; CRAWFORD, M.; SINGH, E.; DENNIS, P. G.; PIETERSE, C. M.; SCHENK, P. M. Inner plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2552, 2017.

MARTÍNEZ, C.; ESPINOSA-RUIZ, A.; PRAT, S. Gibberellins and plant vegetative growth. **Annual Plant Reviews**, v. 49, p. 285-322, 2016.

MEI, C.; FLINN, B. S. The use of beneficial microbial endophytes for plant biomass and stress tolerance improvement. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 81-95, 2010.

MEINHARDT, L. W.; RINCONES, J.; BAILEY, B. A.; AIME, M. C.; GRIFFITH, G. W.; ZHANG, D.; PEREIRA, G. A. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao: what's new from this old foe? **Molecular Plant Pathology**, v. 9, n. 5, p. 577-588, 2008.

MILNER, H.; JI, P.; SABULA, M.; WU, T. Quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR) and fluorescent in situ hybridization (FISH) detection of soilborne pathogen *Sclerotium rolfsii*. **Applied Soil Ecology**, v. 136, p. 86-92, 2019.

MORALES-CEDEÑO, L. R.; DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA, M.; LOEZALARA, P. D.; PARRA-COTA, F. I.; DE LOS SANTOS-VILLALOBOS, S.; SANTOYO, G. Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre-and post-harvest diseases: Fundamentals, methods of application and future perspectives. **Microbiological Research**, p. 126612, 2020.

- MOTA, M. S.; GOMES, C. B.; SOUZA JÚNIOR, I. T.; MOURA, A. B. Bacterial selection for biological control of plant disease: criterion determination and validation. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 62-70, 2017.
- NAIR, K. P. Cocoa (*Theobroma cacao* L.). In: NAIR, K. P. **Tree Crops**. Springer, Cham, 2021. p. 153-213.
- OGUNJOBI, J. K.; LAJIDE, L. The potential of cocoa pods and plantain peels as renewable sources in Nigeria. *International Journal of Green Energy*, v. 12, n. 4, p. 440-445, 2015.
- OROZCO-MOSQUEDA, M. D. C; GLICK, B. R.; SANTOYO, G. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): an efficient mechanism to counter salt stress in crops. **Microbiological Research**, v. 235, p. 126439, 2020.
- OUKALA, N.; AISSAT, K.; PASTOR, V. Bacterial endophytes: The hidden actor in plant immune responses against biotic stress. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 1012, 2021.
- PÉREZ-VICENTE, L. *Moniliophthora roreri* HC Evans et al. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. **Revista de Protección Vegetal**, v. 33, n. 1, p. 00-00, 2018.
- PERROT-RECHENMANN, C. Cellular responses to auxin: division versus expansion. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, v. 2, n. 5, p. 1446, 2010.
- PLACKETT, A. R. G; WILSON, Z. A. Gibberellins and plant reproduction. *Annual plant reviews online*, **Annual Plant Reviews**, v. 49, p. 323-358
- POURBABAEE, A. A.; BAHMANI, E.; ALIKHANI, H. A.; EMAMI, S. Promotion of wheat growth under salt stress by halotolerant bacteria containing ACC deaminase. 2016. **Journal of Agricultural Science and Technology**. v.18, n. 3, p. 855-864, 2016.
- PRETALI, L.; BERNARDO, L.; BUTTERFIELD, T. S.; TREVISAN, M.; LUCINI, L. Botanical and biological pesticides elicit a similar induced systemic response in tomato (*Solanum lycopersicum*) secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 130, p. 56-63, 2016.
- RAMOS, A. C., MELO, J., DE SOUZA, S. B., BERTOLAZI, A. A., SILVA, R. A., RODRIGUES, W. P., CAMPOSTRINI, E.; OLIVARES, F. L.; EUTRÓPIO, F. J.; CRUZ, C.; DIAS, T. Inoculation with the endophytic bacterium *Herbaspirillum seropedicae* promotes growth, nutrient uptake and photosynthetic efficiency in rice. **Planta**, v. 252, n. 5, p. 1-8, 2020.
- ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 19, n. 8, p. 827-837, 2006.
- RUDGARD, S. A.; BUTLER, D. R. 1987. Witches' broom disease on cocoa in Rondonia, Brazil: pod infection in relation to pod susceptibility, wetness, inoculum, and phytosanitation. **Plant Pathology**, v. 36, n. 4, p. 515-522, 1987.
- RUSCONI, M.; CONTI, A. *Theobroma cacao* L., the Food of the Gods: a scientific approach beyond myths and claims. **Pharmacological Research**, v. 61, n. 1, p. 5-13, 2010.

- SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v. 38, p. 576-586, 2008.
- SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA, M.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92-99, 2016.
- SANTOYO, G.; SÁNCHEZ-YÁÑEZ, J. M.; DE LOS SANTOS-VILLALOBOS, S. In: Methods for detecting biocontrol and plant growth-promoting traits in Rhizobacteria. REINHARDT, D.; SHARMA, A. (eds) **Methods in Rhizosphere Biology Research**. Springer, Singapore, 2019. p. 133-149.
- SELDIMIROVA, O. A.; KUDOYAROVA, G. R.; KRUGLOVA, N. N.; GALIN, I. R.; VESELOV, D. S. Somatic Embryogenesis in Wheat and Barley Calli in vitro Is Determined by the Level of Indoleacetic and Abscisic Acids. *Russian Journal of Developmental Biology*, v. 50, n. 3, p. 124-135, 2019.
- SENAR - Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Cacau: produção, manejo e colheita**. Serviço Nacional de Aprendizagem Rural, 2018. 41p.
- SERIGATTI, F. C.; POSSAMAI, R. C. Mapeamento da produção agropecuária no Bioma Amazônia. Escola de Economia de São Paulo. FGV, 2021.
- SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 311-319, 2000.
- SINGH, U. B.; MALVIYA, D.; SINGH, S.; IMRAN, M.; PATHAK, N.; ALAM, M.; RAI, J. P.; SINGH, R. K.; SARMA, B. K.; SHARMA, P. K.; SHARMA, A. K. Compatible salt-tolerant rhizosphere microbe-mediated induction of phenylpropanoid cascade and induced systemic responses against *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker causing spot blotch disease in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Applied Soil Ecology**, v. 108, p. 300-306, 2016.
- SIVIERO, A.; DE MACEDO, P. E. F.; MOREIRA, G. T. S. Doenças em cacauzeiro e cupuaçuzeiro no Acre. **Agrotropica**, v. 34, n. 2, p. 159-164, 2022.
- SOUZA, C. A.S, et al. Cacau: do plantio à colheita. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 2016.
- TAGUCHI, V. **Retomada do cacau. Sul da Bahia é o maior produtor, mas regiões novas, como Cerrado, Pará e Rondônia, despontam na atividade**. Disponível em: <https://economia.uol.com.br/reportagens-especiais/retomada-producao-de-cacau/#cover>. Acesso em: 24 jan. 2023.
- TAPIA-TORRES, Y.; RODRÍGUEZ-TORRES, M. D.; ELSER, J. J.; ISLAS, A., SOUZA, V.; GARCÍA-OLIVA, F.; OLMEDO-ÁLVAREZ, G. How to live with phosphorus scarcity in soil and sediment: lessons from bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 15, p. 4652-4662, 2016.
- THOMAZELLA, D. P. T.; TEIXEIRA, P. J. P. L.; OLIVEIRA, H. C.; SAVIANI, E. E.; RINCONES, J.; TONI, I. M.; REIS, O.; GARCIA, O.; MEINHARDT, L. W.; SALGADO, I.; PEREIRA, G. A. G. The hemibiotrophic cacao pathogen *Moniliophthora perniciosa* depends on a mitochondrial alternative oxidase for biotrophic development. **The New Phytologist**, v.194, n. 4, 1025–34, 2012.

VENTURIERI, A., DE OLIVEIRA, R. R. S. IGAWA, T. K.; FERNANDES, K. D. A.; ADAMI, M.; DE OLIVEIRA JÚNIOR, M. C. M.; ALMEIDA, C. A.; SILVA, L. G. T.; CABRAL, A. I. R.; PINTO, J. F. K. C.; MENEZES, A. J. E. A. de; SAMPAIO, S. M. N. The Sustainable Expansion of the Cocoa Crop in the State of Pará and Its Contribution to Altered Areas Recovery and Fire Reduction. **Journal of Geographic Information System**, v.14, n. 3, p. 294-313, 2022.

VIERA, J. T. Lagartão ou vassoura-de-bruxa. **Tropical Agriculture Trinidad**, v. 6, p. 348–349, 1942.

WESSEL, M.; QUIST-WESSEL, P. M.; FOLUKE. Produção de cacau na África Ocidental, uma revisão e análise dos desenvolvimentos recentes. **NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences**, v. 74, n. 1, pág. 1-7, 2015.

WU, G.; LIU, Y.; XU, Y.; ZHANG, G.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Exploring elicitors of the beneficial rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to induce plant systemic resistance and their interactions with plant signaling pathways. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 31, n. 5, p. 560-567, 2018.

WAHYUNI, N. L. SUNARHARUM, W. B.; MUHAMMAD, D. R. A.; SAPUTRO, A. D. Formation and development of flavour of cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivar Criollo and Forastero: a review. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. p. 012078, 2021.

ZAIDI, A.; AHMAD, E.; KHAN, M. S.; SAIF, S.; RIZVI, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. **Scientia Horticulturae**, v. 193, p. 231-239, 2015.

ZHANG, J.; WANG, P.; FANG, L.; ZHANG, Q. A.; YAN, C.; CHEN, J. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from mushroom residues and their effect on tomato plant growth promotion. **Polish Journal of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 57-65, 2017.

Zion Market Research. 2018. **Chocolate market by type of chocolate (dark, milk, and white) and by sales category (everyday chocolate, premium chocolate, and seasonal chocolate): Global industry perspective, comprehensive analysis, and forecast, 2017–2024.** Disponível em: <<https://www.zionmarketresearch.com/report/chocolate-market>> Acesso: 03 mar. de 2021.

3. CAPÍTULO I

EFFECTS ON PLANT PHYSIOLOGY IN RESPONSE TO INOCULATION OF GROWTH-PROMOTING BACTERIA: SYSTEMATIC REVIEW

ABSTRACT

Changes in physiological mechanisms resulting from the association of plant growth-promoting bacteria (BPCV) as well as the responses generated to stressful factors are of interest for sustainable agriculture. Based on this, the objective of this study was to gather insights from recent years (2012-2022) on the impacts on plant physiology of the use of inoculants from BPCV. To do this, the search for articles was done in three different databases, Science Direct, Springer Nature and Google Scholar, using the following descriptors: plant growth promoting bacteria, plant hormones, biological control, photosynthesis and abiotic stress. After selection, the included articles were systematized in the Excel program. Pearson Correlation and Principal Component Analysis (PCA) were used for comparative analysis of physiological variables. 81 articles were included in the review, where a beneficial association was observed in 45 plant species distributed in 13 Orders and 13 Families, with emphasis on the Families Poaceae, Fabaceae, Solanaceae and Brassicaceae. 47 genera and 98 bacterial species were verified, where *Bacillus* and *Pseudomonas* represented 52% of the verified strains, with emphasis on *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. The main applications were growth promotion, productivity, control of biotic stress and abiotic stress. Positive regulation of photosynthesis was observed, modulating the gene expression of photosynthetic apparatus proteins, pigments, antioxidant production, increased hormonal and nutritional production, osmolyte content, antimicrobial production and decreased lipid peroxidation. Based on this review, it was possible to understand the multifaceted role of BPCV in contributing to the better direction of technology in agriculture.

Keywords: Sustainable agriculture, Plant Growth Promotion, *Bacillus*, *Pseudomonas*.

3.1 INTRODUCTION

The use of inoculants in agriculture results in economic and environmental impacts for the global population. The increase in agricultural productivity in line with the reduction in the use of chemical inputs is considered one of the greatest gains in modern agriculture, generated by this technology. In 2022, the global market for agricultural inoculants reached US\$ 1.1 billion, and could reach US\$ 1.7 billion by 2027 (MARKETS AND MARKETS, 2023). In Brazil, the biological inputs market is growing rapidly, according to the Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII), the country sold 90 million doses of inoculants in the 2022 harvest (OLIVEIRA et al., 2022). It is currently considered one of the fastest growing markets in the agricultural sector, making it a sustainable alternative for food production.

The search for new potential strains for the formulation of these bioinputs is constant. The presence of these microorganisms is reported in several natural ecosystems, such as rhizosphere, soil organic matter, in association with plant tissues and contaminated soils (WANG et al., 2020; NWACHUKWU et al., 2021; EID et al., 2021), and it is through the study of these ecosystems that the scientific community has obtained potential strains to produce commercial formulations for the agricultural market.

The synergistic interaction between microorganism and host stimulates local and systemic responses in the plant through signaling and modulation of various molecular and cellular mechanisms. As a consequence, plants acquire levels of tolerance when imposed on environmental stresses, such as drought, high radiation, high temperatures, pests and diseases (ROZPADEK et al., 2019; QIANG et al., 2019).

The effects of PGPs bacteria are presented through direct and indirect mechanisms depending on their involvement in plant metabolism. Examples of mechanisms that are not directly related to plant metabolism are biological nitrogen fixation, solubilization of soil nutrients, production of siderophores and biological control of pathogenic agents through lytic enzymes such as cellulases, chitinases, lipases and proteases (ETESAMIA; MAHESHWAR, 2018). In relation to the mechanisms that effectively involve direct changes in the plant's metabolism, there is the production of phytoestrogens, through the production of plant hormones such as indole acetic acid, abscisic acid, gibberellins, cytokinins and ethylene. The

endogenous levels of these hormones are altered in plants, favoring the cellular differentiation of vegetative and reproductive organs (REHMAN et al., 2020).

Effects on photosynthesis and reduction in levels of biotic and abiotic stresses, such as saline, water, light and heavy metal stress, are some examples of physiological changes positively regulated by plant growth promoting bacteria. In general, to determine how strains affect the photosynthetic apparatus, the photochemical phase has been studied, where the main parameters evaluated are minimum fluorescence (F_0), maximum photochemical quantum yield of photosystem II (PSII) (F_v/F_m), PSII operational efficiency (FPSII), non-photochemical quenching (NPQ) and electron transport rate (ETR) (LUCAS et al., 2014; GARCÍA-CRISTOBAL et al., 2015). Furthermore, the enzymatic activity and expression of Calvin-Benson cycle genes have been evaluated to quantify carboxylation efficiency and understand the level of protection that PGP bacteria confers on the plant's functional system (TIEPO et al., 2018). Gas exchange parameters, net assimilation rate (photosynthesis) and water use efficiency are also physiological traits evaluated in plants, which demonstrate significant improvements under PGP bacteria inoculation (SAMANIEGO-GÁMEZ et al., 2016).

Plants will always be subject to biotic and abiotic interference, which can lead to possible stress. Therefore, the technology of using inoculants formulated from bacteria that promote plant growth has contributed to the development of more tolerant and productive plants. Therefore, understanding the physiological mechanisms resulting from the bacteria/host association, as well as the responses generated to stressful factors, brings important information to the scientific community, especially how PGP interferes with plant metabolism. Therefore, this is a systematic review that aims to gather information on the effects and changes in plant physiology through the use of plant growth-promoting bacteria (PGP)

3.2 MATERIAL AND METHODS

This is a systematic review on the effects on plant physiology resulting from the inoculation of growth-promoting bacteria. This review was written based on the guidelines proposed in the Preferred Reporting Items for Systematic

Reviews and MetaAnalyses (PRISMA) guide (MOHER et al., 2015; SHAMSEER et al., 2015).

The search for articles was done in three different databases, Science Direct, Springer Nature and Google Scholar, which were identified by the following descriptors plant growth promoting bacteria, plant hormones, biological control, photosynthesis, and abiotic stress. Articles published in English between 2012 and 2022 were used in this review. The inclusion criteria for the articles were: (1) research articles, (2) application of bacteria as pure culture or formulation, (3) analyzes of the effect of bacteria on plant metabolism. Regarding the exclusion criteria, the articles considered inappropriate were: (1) review articles or book chapters, (2) studies with microorganisms other than bacteria, (3) studies with exclusively *in vitro* analyses, (4) evaluation only of morphological characters after inoculation.

The inclusion or exclusion of articles was done by reading titles and abstracts, where the included articles were saved for later analysis of results. Subsequently, the articles were systematized in the Excel program, to separate information regarding the plant and bacterial species studied, use of pure culture or formulation, effects on the plant and author/year of publication. Subsequently, this information was organized into tables and figures in order to obtain a comparative analysis.

Pearson's correlation was used to measure the statistical relationship between physiological variables, using the GraphPad Prism 9.5 program. Principal Component Analysis (PCA) was used to analyze the interrelationships between physiological variables and bacterial genera identified in the studies.

3.3 RESULTS

After searching for articles using the descriptors presented, a total of 19,810 records were obtained, distributed as follows: 17,300 in the Google Scholar database, 1,680 obtained in Science Direct and 830 obtained in the Springer Nature database (Figure 1). Among the records found, titles and abstracts were first read, and 428 articles were included. After reading, 309 articles were discarded because they did not meet the inclusion criteria, leaving 119 articles. Duplicate articles were subsequently excluded, totaling 81 articles included in the systematic review (Figure 1).

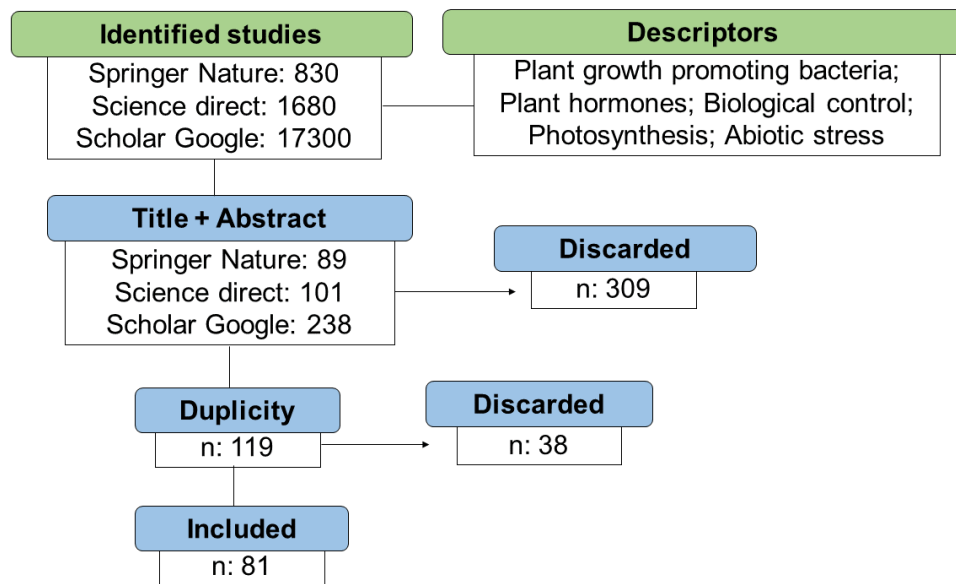


Figura 1. Flowchart of article selection on the applications of PGP bacteria in agriculture and their effects on plant physiology.

A gradual increase has been observed over the years in the use of PGP bacteria in agriculture. Figure 2A reveals a marked progression between the years 2012 and 2022. It can be seen that the majority of studies were developed in the last 3 years (2020-2022), which together represent 51.9% of the articles. Figure 2B shows the continents that most develop studies on this topic, with the Asian continent in first place, where India is the prominent country (Table 1).

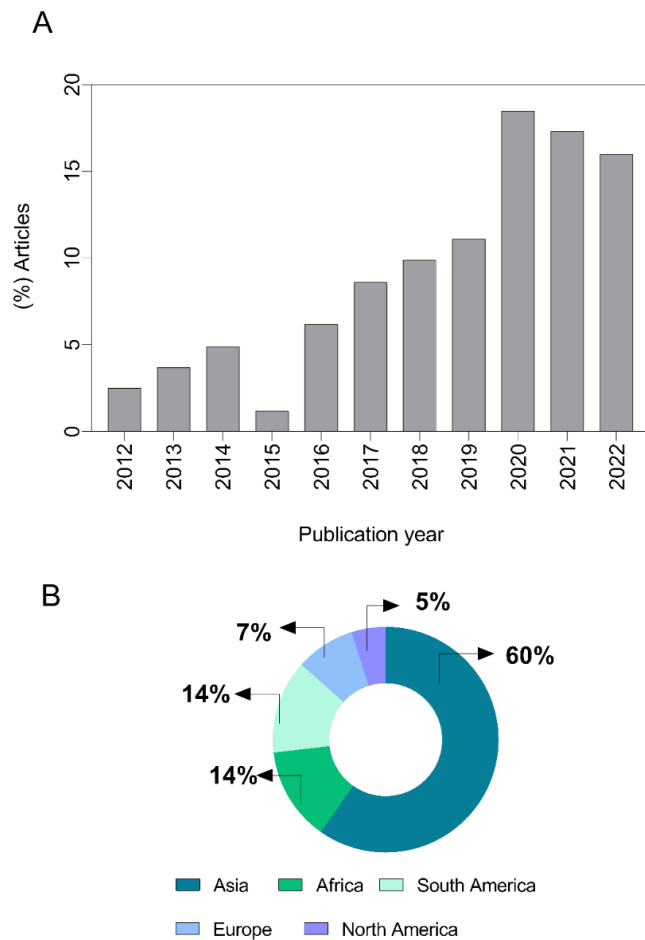


Figura 2. Temporal and geographic distribution of studies. (A) Percentage of articles identified by year of publication. (B) Geographic distribution of selected article

Table 1. Geographic distribution of studies on PGP bacteria applications in agriculture and their effects on plant physiology, by continent and country.

Continent	Country	n°. articles	Continent	Country	n°. articles	
Asia	Korea	10	South America	Colombia	1	
	India	13		Argentina	2	
	China	11		Brazil	8	
	Africa	Iran	6	Europe	Romania	1
		Malaysia	1		Italy	1
		Pakistan	6		Denmark	2
		Thailand	2		Spain	1
Africa		Tunisia	4		Netherlands	1
		Egypt	5		North America	Canada
	Morocco	2	USA	2		
		Mexico	1			

According to Figure 3A, 45 plant species were identified in this study, divided into 13 Orders and 13 Families (Figure 3A). Higher frequencies of species from the Families Poaceae, Fabaceae, Solanaceae and Brassicaceae were found, with *Zea mays* (corn), *Glycine max* (soybean), *Solanum lycopersicum* (tomato) and *Arabidopsis thaliana* (starweed) being the most worked species within each Family, respectively (Figure 3B, 3C, 3D, 3E).

In total, 98 bacterial species (163 strains) belonging to 47 genera were identified, creating beneficial associations with plants. It was found that out of 163 strains studied, 85 of them are from the genera *Bacillus* (35.5%) and *Pseudomonas* (16.5%), both representing 52% of the strains analyzed across the studies (Figure 4A). For the genus *Bacillus*, 58 strains were identified in 44 articles (54.3%), with *Bacillus subtilis* the most studied species currently (Figure 4B). For the genus *Pseudomonas*, 27 strains were identified in 20 articles (24.7%), with *Pseudomonas fluorescens* the most discussed species within this genus, and the second most studied currently (Figure 4C). Other genera were highlighted, such as *Paenibacillus* (5.7%), *Enterobacter* (4.5%), *Serratia* (3.4%), *Streptomyces* (3.4%), *Azospirillum* (3.4%), *Achromobacter* (3.4%) and *Herbaspirillum* (3.4%) (Figure 4A).

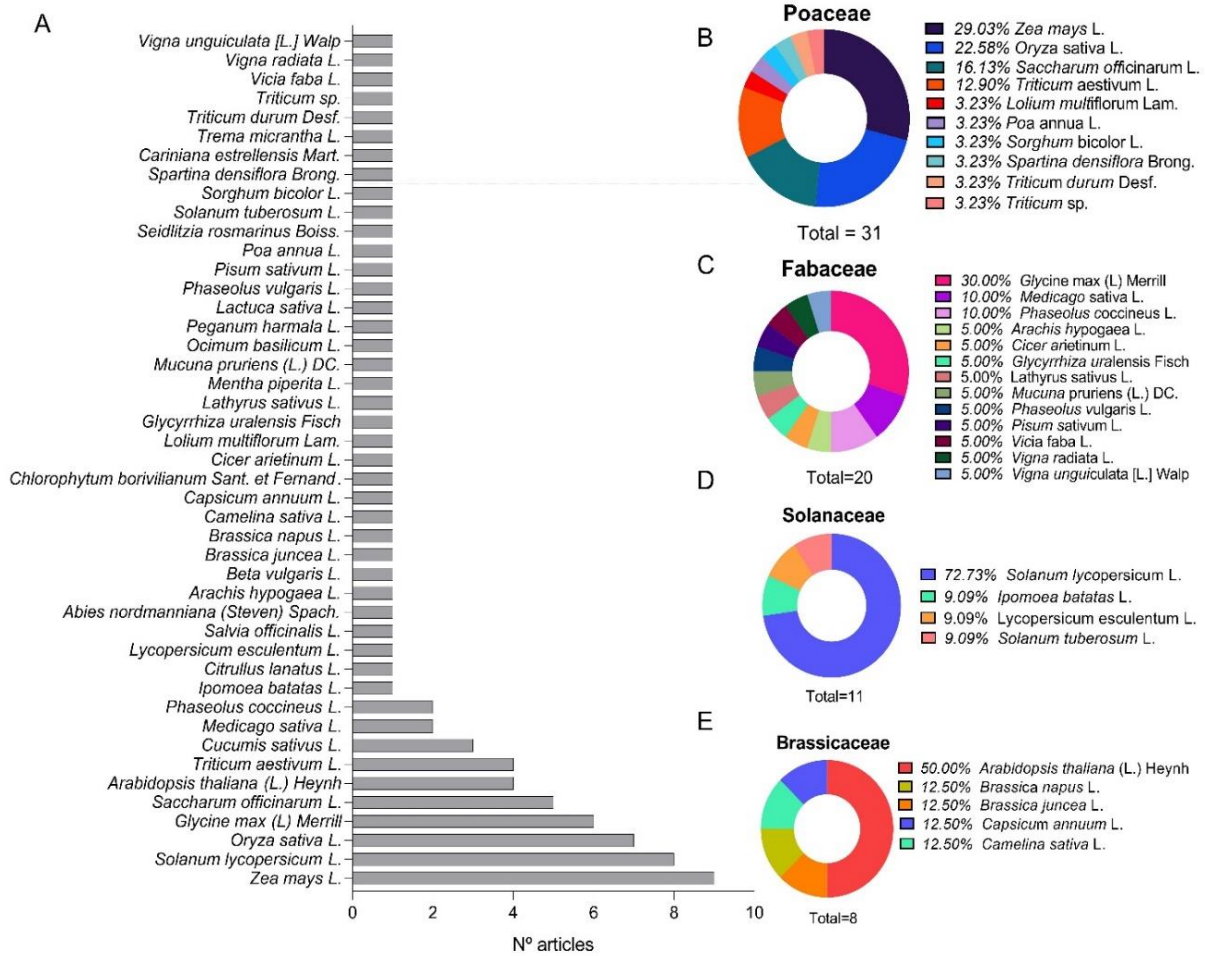


Figura 3. Plant families and species associated with PGPs bacteria. (A) Percentage of articles by plant species. (B) Percentage of articles by species of the Poaceae family. (C) Percentage of articles by species of the Fabaceae family. (D) Percentage of articles by

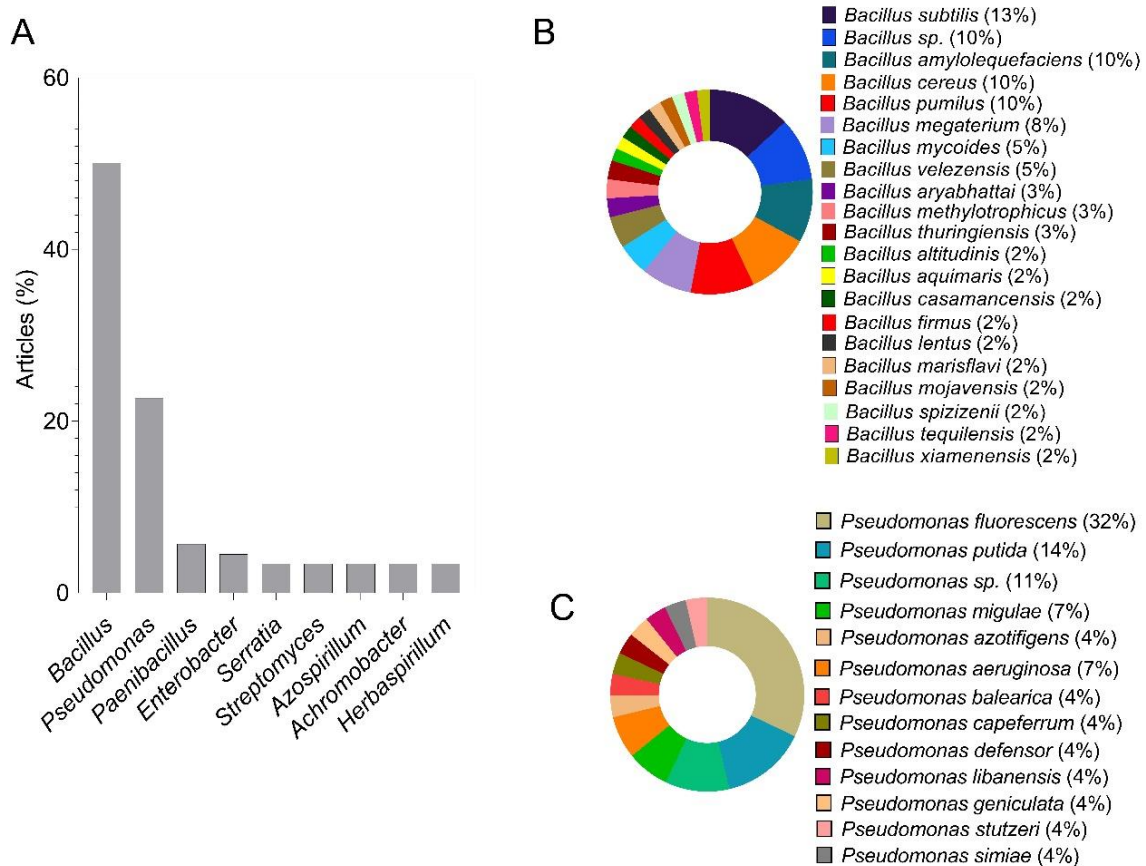


Figure 4. Most frequent bacterial genera and species among the articles. (A) Most frequent genera by articles. (B) Frequency of *Bacillus* species. (C) Frequency of *Pseudomonas* species.

The main applications and benefits generated by plants, when combined with PGPs, were growth promotion, productivity, control of biotic stress (diseases) and abiotic stress (water, saline, metals, heat and others). It is noted that there is a high trend of research aimed at promoting plant growth and controlling salt stress. These biostimulant effects, together, represent 55.1% of the content covered among the articles (Figure 5A). Furthermore, out of eight biostimulant implications, the genera *Bacillus* and *Pseudomonas* stood out, exhibiting eight and seven of the effects, respectively (Figure 5B).

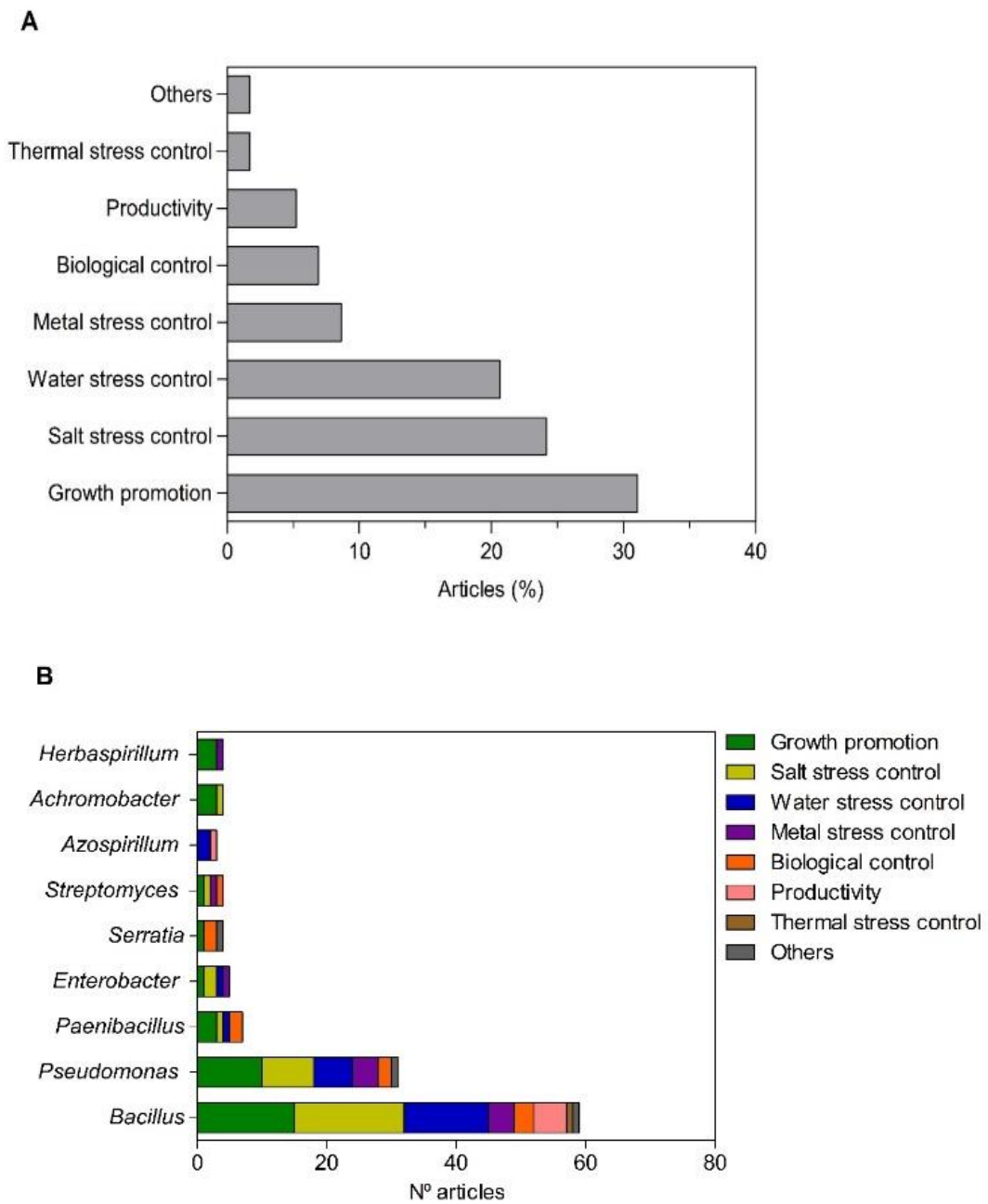


Figura 5. Biostimulant effects promoted using PGP's bacteria. (A) Frequency of articles by biostimulatory effect. (B) Relationship between the main bacterial genera and their biostimulant effects.

In general, bacterial inoculation has demonstrated positive regulation in metabolism, modulating the gene expression of photosynthetic apparatus proteins, pigments, antioxidant production, increased hormonal and nutritional production, osmolyte content, antimicrobial production and decreased lipid peroxidation, consequently reflecting on the adaptation of plants to environmental stress.

The physiological effects have been analyzed by numerous scientific methods. To analyze implications related to gas exchange and water use efficiency, the variables evaluated were photosynthesis (A), transpiration (E), stomatal conductance (Gs), water use efficiency (WEU) and carboxylation efficiency (EC). Chlorophyll fluorescence measurements were also addressed as current quantum efficiency ($\Delta F/F_m'$), potential quantum efficiency (F_v/F_m) of photosystem II (PSII), photochemical quenching (qP), non-photochemical quenching (NPQ) and electron flow in PSII (ETR) (table 2).

Biochemical analysis under parameters of nutritional, enzymatic, hormonal and defense metabolism were addressed. Due to environmental stress, there is a constant threat to the conformational stability of intracellular proteins, thus the production of molecules that done cellular homeostasis such as osmolytes (proline, glycine and betaine) and antioxidant enzymes (SOD, CAT, APX, GR, GPOX, POX and GS) were detected between studies (Table 2). The reduction of lipid peroxidation, expression of process regulatory genes (ZmGR1, ZmAPX1, ZmNHX3 and ZmWRKY58) and production of antimicrobial substances (siderophores, hydrogen cyanide-HCN, flavonoids, salicylic acid, phytoalexins and VOCs) are also other variables positively regulated after inoculation (Table 1).

The Pearson correlation for physiological variables affected in responses to inoculation is shown in Figure 6. The more intense the blue color, the more correlated the variables are (Figure 6). It is noted that all variables showed a positive correlation, only the intensity varied. Correlations above 0.9 are considered very strong, such as photosynthesis x stomatal conductance and pigments x nutrition (Figure 6). Between 0.7 to 0.9 indicates a strong correlation, such as gene regulation x nutrition and antimicrobials x photosynthesis. Values 0.5 to 0.7 indicate a moderate correlation, for example we have hormones x antimicrobials and lipid peroxidation x photosynthesis. Few weak correlations were presented (0.3 to 0.5), but hormone x nutrition and proline x hormone are some examples. No negative correlation was identified (Figure 6).

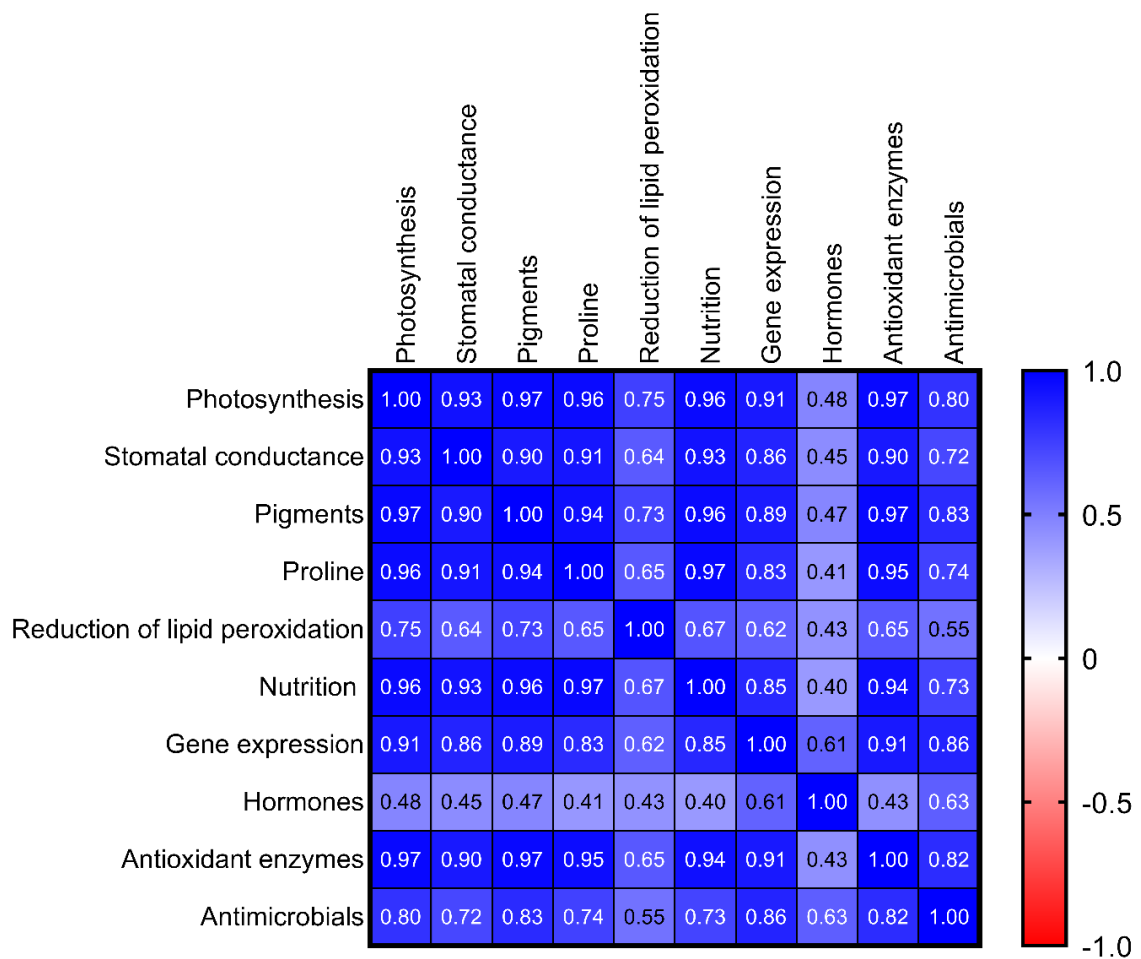


Figura 6. Pearson correlation (p) of physiological variables in response to PGP bacteria.

The Principal Component Analysis (Figure 7) of the data set containing all physiological characters related to bacterial genera accumulated 82.4% in accumulated variation therefore explaining a large part of the data variability (above 50%).

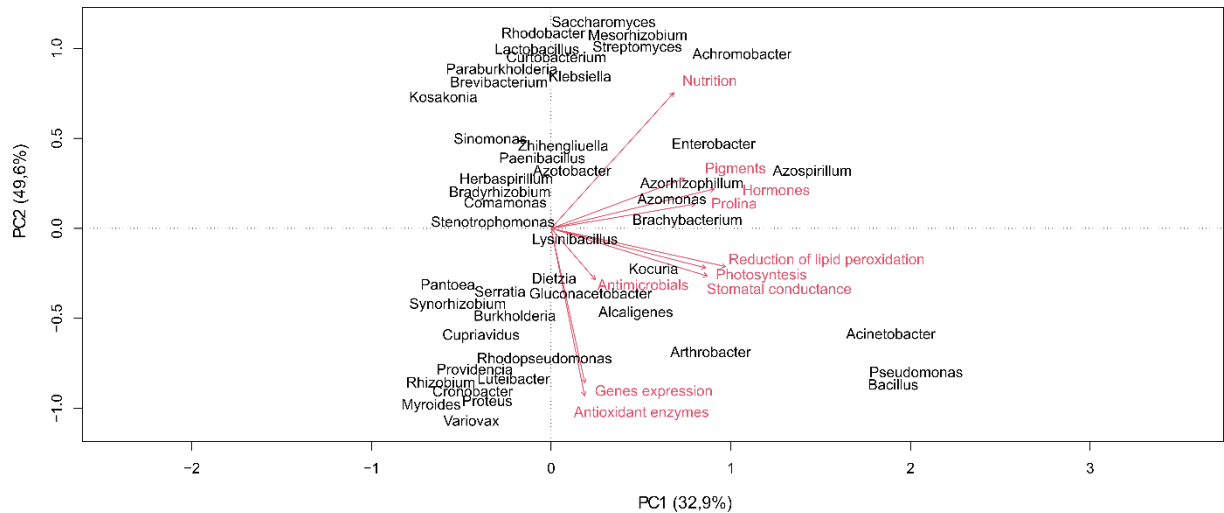


Figura 7. Principal Component Analysis (PCA) between physiological variables and bacterial genera.

3.4 DISCUSSION

In recent years, modern agriculture, with conservationist characteristics, has focused on developing sustainable technologies to increase production without causing impacts to the ecosystem. Therefore, the use of biological inputs in agriculture, such as the use of beneficial bacteria, has been a technique that has demonstrated numerous benefits to crops and is used as an alternative to complying with the UN 2030 Agenda, which includes the Sustainable Development Goals (DUBEY et al., 2022; ELNAHAL et al., 2022).

In this sense, the Asian continent has advanced with representative scientific contributions in the discovery of new strains with biostimulant potential. This fact corroborates the findings of this study, in which 60.4% of the articles were developed by Asian countries. It is important to highlight that this continent has 4.561 billion people (60.3% of the global population), in addition to being responsible for 50% of agricultural production, with annual growth of 3.8% (WYCKHUYS et al., 2020). Furthermore, agriculture not only provides food, but also raw materials that supply large industries in the region, making agriculture a powerful engine of economic development (WYCKHUYS et al., 2020).

Brazil was the 4th country with the highest percentage of studies with , representing 9.8% of published articles. We should highlight that Brazil is the 4th largest food producer in the world with production valued at US\$ 135.8 billion

(AMBONI, 2022) and a highlight in research and commercialization of inoculants. According to the Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII, 2019), inoculant sales exceed the 90 million dose mark, becoming a key strategy for the country, where the majority of fertilizers used in agriculture are imported (OLIVEIRA et al., 2022).

Among the Families with the largest number of species worked, Poaceae, Fabaceae, Solanaceae and Brassicaceae stand out. Poaceae, or also called Gramineae, is the fourth largest family of flowering plants, with around 11,000 species in almost 800 genera worldwide, being considered the most important for human consumption (PETERSON, 2013; SORENG et al., 2015). In this context, researchers consider species from the Poaceae family as important hosts for inoculants, where numerous studies have reported improvements in productive performance, such as early tillering and better reproductive performance in rice (DONI et al., 2022), grain filling rate and the grain weight per corn plant (ALORI et al., 2019), improvement in the concentration of mineral nutrients and an increase in yield of up to 17% in wheat (HUSSAIN et al., 2020).

As for the Fabaceae, Solanaceae and Brassicaceae Families, some representative species stood out, such as soybean, tomato and starwort, respectively. Soybeans are among the main commodities, playing a fundamental role in the security of the global food supply with an equivalent production of 355.588 million tons cultivated on 130.935 million hectares (EMBRAPA, 2022). It has been shown to be the ideal crop for the use of inoculants due to the biological nitrogen fixation (BNF) process, resulting in nitrogen supply rates greater than 80%, with high grain yield (ZILLI et al., 2021). The savings in the use of mineral nitrogen promoted by the use of inoculants already reach a value of more than US\$ 13 billion (HUNGRIA; MENDES, 2015).

Tomato is one of the most popular and cultivated vegetables in the world, but it is an extremely sensitive crop to more than 200 diseases caused by a variety of phytopathogenic microorganisms (SHAHID et al., 2022). This fact has contributed to the increase in studies on the species, mainly focused on the biological control of diseases using bacterial inoculants. Studies point to several specific mechanisms used by strains in control, such as antibiosis, competition, production of cellulolytic enzymes, cyanogenic compounds, siderophores and induced systemic resistance (DIMKIĆ et al., 2022; ELNAHAL et al., 2022).

The species *Arabidopsis thaliana*, known as starwort, or also as a model plant, is a valuable angiosperm for research in plant physiology, biochemistry and development. Researchers point to it as a model to address fundamental questions of the function and biological structure common to eukaryotes, such as regulatory metabolic routes, genetic approaches, as well as response to the effects produced from bacterial inoculation, to generate rapid returns, as it is a short-cycle plant (MEINKE et al., 1998; DELATORRE; SILVA, 2008).

Bacillus and *Pseudomonas* represented 52% of the strains analyzed between studies. *Bacillus* is a representative of gram-positive bacteria, and is currently the most used in the biological inoculant market, due to its easy colonization in plants and ability to produce durable formulations due to the formation of endospores (BORRIS et al., 2015). Furthermore, it is a microorganism that can be easily cultivated in the laboratory, and can be isolated from different substrates such as soil organic matter, rhizosphere, endophyte (SANSINENEA, 2019). The literature addresses improvements in plant health and productivity, which are mediated by three ecological mechanisms: production of antimicrobials against pathogenic organisms, secretion of compounds that promote plant growth, whether under normal conditions or under abiotic stresses, and induction of systemic resistance (KOUR, 2019).

Of 21 *Bacillus* species verified in the study, *B. subtilis* is the most studied species. It is a species with broad adaptability and synergistic interactions with a wide variety of hosts. Strains of *B. subtilis* have shown improvements in the availability of nutrients, mainly nitrogen, phosphorus and iron, which occur in the soil in a form inaccessible to plants. Furthermore, it is capable of altering the homeostasis of plant hormones, promoting cell division and consequent plant growth. Tolerance to environmental stresses, such as drought, has also been reported, as *B. subtilis* has been shown to be efficient in regulating biosynthesis genes for abscisic acid, one of the main plant hormones for stress regulation (WOO et al., 2020; BLAKE et al., 2021).

Pseudomonas is another prominent genus, where 13 different species presented biostimulant characteristics, with emphasis on *Pseudomonas fluorescens*. In nature, this genus encompasses more than 250 species, predominantly in the rhizosphere. It presents a rapid growth rate, high metabolic versatility, developing control of biotic and abiotic stress by modulating the concentrations of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase in the plant, this is because the gene that encodes ACC deaminase (*acdS*) is present in 2,591 *Pseudomonas*

genomes, being fundamental for bacteria-plant interaction by reducing the level of ethylene produced by the plant (GLICK; NASCIMENTO, 2021).

Pseudomonas fluorescens is studied mainly for biological control due to the suppression of pathogens such as *Ralstonia solanacearum* (tomato wilt), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (tomato wilt), *Monographella albescens* (rice leaf scald), one of the main mechanisms being the induction of ROS scavenging enzymes such as peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO) and lipoxygenase (LOX) (BUENO et al., 2017; ABO-ELYOUSR et al., 2019; SURESH et al., 2022). The production of phenolic compounds, flavonoids and phytoalexins are also important mechanisms of this species to inhibit the development of pathogens (CHIAPPERO et al., 2019; SAHEBANI; GHOLAMREZAEI, 2021).

Plant growth promotion is the main effect found in plants associated with bacterial inoculants, where 31% of studies addressed biostimulant and biofertilizer effects. In this work, the vegetative and reproductive changes of plants are perceived mainly by the improvement in the nutritional aspects of the plant, providing fixed nitrogen through biological nitrogen fixation, phosphorus through phosphate solubilization, in addition to potassium, calcium, magnesium, zinc, iron, among other essential minerals (BASU et al., 2021). Much of the soil's nutrients may be unavailable, as they are linked to organic and inorganic constituents or present as insoluble precipitates. Therefore, the association may result in the transformation of compounds into their assimilable forms and releasing them into the soil solution, such as boron (H_3BO_3); copper (Cu^{2+}); molybdenum (MoO_4^{2-}), potassium (K^+), zinc (Zn^{2+}) magnesium (Mg^{2+}) (RAMOS et al., 2020). Higher nutrient contents resulted in greater fruit weight, greater aerial part and root diameter, greater fresh and dry mass, and greater productivity (KARLIDAG et al., 2007).

When it comes to promoting plant growth by bacteria, endogenous regulation of the levels of phytohormones such as auxins, cytokinins, gibberellins, abscisic acid and ethylene were one of the main aspects evaluated to analyze possible biostimulant effects among the articles. An aspect frequently discussed in the articles is the functioning of the ACC deaminase enzyme, reducing ethylene levels, facilitating plant growth, especially in the presence of abiotic and biotic stresses. Furthermore, the auxin, indole acetic acid (IAA), when secreted by bacteria, joins the IAA secreted by the plant, inducing cell proliferation or even inducing the transcription of genes for the production of ACC deaminase (GLICK, 2020). In addition, to the synthesis of enzymes

and hormones, other compounds with antimicrobial activity are detected in the bacteria-plant association response, such as siderophores, HCN, VOCs, isoprenes, flavonoids, salicylic acid and phytoalexins, forming part of mechanisms involved in biological control and growth promotion. indirect from the plant (PATHANIA et al., 2020).

The regulation of biotic and abiotic stresses by bacteria was also highlighted among the articles, where saline, water, heavy metal and thermal stress were studied. The control of salt stress was the second most discussed biostimulant effect, this fact is related to the constant growth of areas affected by salt, where the forecast is that 50% of arable areas globally will be affected. Damage to photosynthetic machinery, losses in plant development and losses in productivity are some of the harmful effects of salt (ABBAS et al., 2019).

When subjected to saline stress, inoculated plants presented in the study demonstrate numerous mechanisms to overcome the problem such as the production of cytokines, accumulation of abscisic acid (ABA), production of antioxidants against ROS, such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) and non-enzymatic antioxidants such as comotocopherols, ascorbate, cysteine and glutathione, all involved in the degradation of ROS (SHULTANA et al., 2022). Osmolytes are also key substances produced by BPCV, such as proline, glycine and betaine, which are accumulated in plants with multifunctional roles such as protein maintenance, regulation of cytosolic acidity, reduction of lipid peroxidation and elimination of ROS, favoring cellular homeostasis (ABBAS et al., 2019; BABAR et al., 2021).

BPCVs also increase plant photosynthesis, the content of photosynthetic pigments, stomatal conductance, regulate the rate of transpiration and the efficiency of photosystem II both under normal conditions and under stress, especially under water stress (UARROTA et al., 2022). The fact that BPCVs can control stomatal opening and closing helps minimize water losses, mainly through the production of ABA that accumulates in response to water stress produced in the plant's chloroplasts and roots. This hormone is transferred to guard cells promoting stomatal closure (GOWTHAM et al., 2022).

Inoculation promotes greater supplies of nutrients such as NPK, which are essential for the biosynthesis of photosynthetic pigments, especially under stress conditions for the conservation of the photosynthetic system. This fact may be related

to the higher quantum yield since photosystem II (PSII), non-regulatory constitutive non-photochemical quenching quantum yield ratio (PQ), chlorophyll fluorescence (qTQ) and variable chlorophyll fluorescence (qTV) are positively regulated (KHANGHAHI et al., 2020).

Gene regulation is also altered mainly with the identification of stress-responsive genes. High transcription levels of genes for coding antioxidant proteins (ZmGR1 and ZmAPX1) and genes involved in salt tolerance (ZmNHX1, ZmNHX2, ZmNHX3, ZmWRKY58 and ZmDREB2A) are reported (LI et al., 2020). These findings are part of accessing the complete mRNA transcriptome, present in a cell at any stage or under any environmental conditions. When studying gene expression in rapeseed inoculated with *Stenotrophomonas rhizophila*, through transcriptomic analysis, the recognition of spermidine, a growth regulator, formed under abiotic stress was verified (ALAVI et al., 2013).

3.5 CONCLUSIONS

Growth promotion and salt stress control are the main applications of BPCVs, with *Bacillus* and *Pseudomonas* being the most recurrent bacterial genera. The botanical families Fabaceae and Poaceae stand out in the bacteria/plant interaction, representing the highest percentages of studies in this area, with greater emphasis on crops such as *Zea mays* and *Glycine max*.

Bacterial inoculation promotes beneficial effects on plant physiology, positively regulating photosynthetic parameters, improving stomatal conductance, increasing the production of proline and photosynthetic pigments, reducing lipid peroxidation, increasing nutritional and hormonal levels, producing antioxidant enzymes, antimicrobial substances, as well as an increase in the expression of genes related to plant adaptation to environmental stresses.

ACKNOWLEDGMENT

To the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for granting the scholarship to Fernanda Viana Diniz.

To the Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Acre (FAPAC) for financing the project entitled “Bactérias endofíticas de cacau (*Theobroma cacao* L.) para promoção de crescimento vegetal e controle biológico de *Moniliophthora perniciosa*”.

Table 2. Use of bacteria in agriculture and their effects on plant physiology.

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Lathyrus sativus</i> L. (pea)	Consortium: <i>Rhizobium leguminosarum</i> (M5), <i>Pseudomonas fluorescens</i> (K23), <i>Luteibacter</i> sp., <i>Variovorax</i> sp.	Metal stress control	Increase in chlorophyll and soluble sugars; Biosynthesis of phenolic compounds, carotenoids and proline; Stress mitigation by modulating SOD, CAT, APX and GPOX.	Abdelkrim et al. (2018)
<i>Lycopersicon esculentum</i> L. (tomato)	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Biological control	Reduction of disease severity, production of siderophores, hydrogen cyanide and AIA	Abo-Elyousr et al. (2019)
<i>Citrullus lanatus</i> (watermelon)	<i>Paenibacillus polymyxa</i> (SN-22), <i>Sinomonas atrocyanea</i> (NSB-27)	Biological control	Reduction in the severity of the disease; increase in total chlorophyll content, plant height, total fresh and dry mass.	Adhikari et al. (2017)
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomato)	<i>P. fluorescence</i> (YsS6), <i>P. migulae</i> (8R6) and its ACC deaminase-deficient mutants	Salt stress control and growth promotion	Increased growth, greater fresh and dry biomass, greater chlorophyll content and greater number of flowers and flower buds.	Ali et al. (2014)
<i>Brassica juncea</i> L. (mustard)	<i>Bacillus cereus</i> (NAD-7), <i>Bacillus casamancensis</i> (MKS-6)	Water stress control	Greater relative water content and plant biomass production; membrane stability index, total chlorophyll content and photosynthetic parameters; ROS homeostasis by increasing SOD, APX, CAT	Asha et al. (2021)
<i>Triticum aestivum</i> L. (wheat)	<i>Arthrobacter protophormiae</i> (SA3), <i>Dietzia natronolimnaea</i> (STR1), <i>Bacillus subtilis</i> (LDR2)	Control of water and saline stress	Increases AIA content; Reduction of ABA and ACC content for salt stress; Increased expression of the TaDREB2 gene; greater efficiency of photosystem II, greater assimilation of CO ₂ , greater stomatal conductance and improved transpiration levels.	Barnawal et al. (2017)
<i>Oryza sativa</i> (rice)	<i>Burkholderia pyrocinia</i> (BRM-32113), <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM-32111)	Biological control	Reduction of AUDPC; Increase in the CO ₂ assimilation rate; Increase in APX enzyme activity.	Bueno et al. (2017)
<i>Phaseolus coccineus</i> L. (bean)	<i>Bacillus pumilus</i> (S4), <i>Bacillus mycoides</i> (S7)	Growth promotion	Increased photosynthesis, water use efficiency and chlorophyll content in leaves. Increased SOD and POD activity. Increase in grain yield, protein content and carbohydrate content.	Stefan et al. (2013)
<i>Zea mays</i> L. (corn)	<i>Bacillus mojavensis</i> (JK07), <i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Salt stress control	Increases the expression of genes related to the production of antioxidant enzymes: SOD, APX, CAT and PPC; Increased salt tolerance.	Feng et al. (2019)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Salvia officinalis</i> (common sage)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Pf Ap1, Pf Ap18) e duas <i>Pseudomonas putida</i> (Pp Ap9, Pp Ap14)	Growth promotion	Increased shoot and root biomass, leaf phosphorus content, essential oil yield, total phenolics and flavonoid content.	Ghorbanpour et al. (2016)
<i>Camelina sativa</i> L. (false-linen)	<i>Pseudomonas migulae</i> (8R6) e <i>Pseudomonas fluorescens</i> (YsS6)	Salt stress control	Increased production of ACC deaminase and expression of the <i>acdS</i> gene; reduces decline in shoot length and shoot mass; Increase in chlorophyll content and photosynthetic yield.	Heydarian et al. (2021)
<i>Triticum aestivum</i> L. (Wheat)	<i>Bacillus methylotrophicus</i> (M4-1)	Salt stress control	Increased levels of K, Mg, Na and total N and organic matter in the rhizosphere soil were positively correlated with wheat growth and salt tolerance.	Ji et al. (2020)
<i>Arabidopsis thaliana</i> L. (starweed)	<i>Achromobacter</i> sp. (5B1); <i>Achromobacter</i> sp. (B124) <i>Achromobacter xylosoxidans</i> (P35)	Growth promotion	Auxin redistribution. Increased number of cells expressing auxin modulators, increased auxin responsiveness in lateral root primordia.	Jienez-Vazquez et al. (2020)
<i>Cucumis sativus</i> L. (cucumber)	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Growth promotion	Increase in shoot length, root length, shoot fresh mass, shoot dry mass and chlorophyll content, secretion of IAA and/or organic acids; Increased content of 17 amino acids.	Kang et al. (2014)
<i>Capsicum annuum</i> L. (pepper)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Growth promotion, control of water, saline and heavy metal stress	Increased levels of: chlorophyll, salicylic acid, sugar, amino acids and proline; Regulation of the host antioxidant system and hormones; Induces the expression of stress-related genes (CaXTHs, CaWRKY2, CaBI-1, CaPTI1 and CaBiPs).	Kazerooni et al. (2021)
<i>Cicer arietinum</i> L. (chickpea)	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> e <i>Bacillus megaterium</i>	Water stress control and growth promotion	Greater shoot and root biomass, higher Fv/FM ratio and greater accumulation of proteins, sugars and phenolic compounds; Accumulation of succinate, leucine, disaccharide, saccharic acid, glyceric acid, malonate, 5-oxo-L-proline, trans-cinnamate, aminoacyl-tRNA; Increased biosynthesis of primary and secondary metabolites and amino acid metabolism	Khan et al. (2019a)
<i>Triticum durum</i> Desf. (Wheat)	<i>Acinetobacter pittii</i> , <i>Acinetobacter oleivorans</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> e <i>Comamonas testosterona</i>	Water and saline stress control	Positive regulation in the amount of fraction of light absorbed by photosystem II (PSII), quantum yield ratio of non-regulatory constitutive non-photochemical quenching (PQ), chlorophyll fluorescence (qTQ) and variable chlorophyll fluorescence (qTV).	Khanghahi et al. (2020)
<i>Zea mays</i> L. (maize)	<i>Klebsiella</i> sp. (Br10, <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Fr1), <i>Bacillus pumilus</i> (S1r1) e <i>Acinetobacter</i> sp. (S3r2) e <i>Bacillus subtilis</i> (UPMB10)	Promoting growth and productivity	Biologically fixes atmospheric N ₂ and delays N remobilization in the corn plant for greater ear yield.	Kuan et al. (2016)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Arabidopsis thaliana</i> L. (starweed)	<i>Paenibacillus polymyxa</i> (E681)	Growth promotion and biological control	Growth promotion and biological control Increased expression of proteins related to defense/stress functions, such as: phytoalexins, Improved levels of antioxidant defense, photosynthesis and plant hormones.	Kwon et al. (2016)
<i>Abies nordmanniana</i> (pine)	<i>Bacillus</i> e <i>Paenibacillus</i>	Growth promotion	Improves seed germination; Increased level of reserve and soluble carbohydrates; Increases GST and GR activities in the plant; Increases root growth; Increased chlorophyll level.	Garcia-Lemos et al. (2020)
<i>Medicago sativa</i> L. (alfafa)	<i>Enterobacter aerogenes</i> (LJL-5) e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (LJL-13)	Growth promotion	Increased shoot height, fresh and dry mass, yield and crude protein content of alfalfa plants.	Liu et al. (2018)
<i>Zea mays</i> L. (maize)	<i>Bacillus velezensis</i> (D3)	Water stress control	Improvement of physiological parameters, such as: photosynthesis rate, stomatal conductance, vapor pressure, water use efficiency and transpiration rate.	Nadeem et al. (2020)
<i>Solanum lycopersicum</i> L. (tomato)	<i>Pseudomonas</i> sp. (S3)	Growth promotion	Increase in root/shoot length, root/shoot fresh mass and root/shoot dry mass, photosynthetic pigment content, increased accumulation of osmolytes (proline and total soluble sugar). Increased antioxidant activities (catalase and peroxidase) and phenolic content in tomato plants under saline stress.	Pandey; Gupta (2020)
<i>Spartina densiflora</i> (morraça)	<i>Pantoea agglomerans</i> (RSO6 e RSO7) e <i>Bacillus aryabhatai</i> RSO25	Heavy metal stress control	Decreases the Oxidative Stress Index (IEO); Increased PAL expression as a pathway to control metal stress.	Paredes-Páliz et al. (2018)
<i>Saccharum officinarum</i> (sugar-cane)	<i>Pseudomonas putida</i> GB-1	Promotion of growth and control and water stress	Increase in the size of the root system; Increase in CO ₂ assimilation Improvement in proline content in leaves and roots.	Rampazzo et al. (2018)
<i>Trema micrantha</i> (1); <i>Cariniana estrellensis</i> (2)	<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab-V5), <i>Bacillus</i> sp., <i>Azomonas</i> sp. e <i>Azorhizophillum</i> sp.	Water stress control	<i>T. micrantha</i> : increased protein and starch in leaves and roots, photosynthesis, carboxylation efficiency; increase in dry mass of roots and shoots; reductions in H ₂ O ₂ , lipid peroxidation, water potential and proline. <i>C. strellensis</i> : increased photosynthesis and instant carboxylation efficiency, higher starch content in leaves and roots and higher protein content in leaves; lower levels of hydrogen peroxide and lipid peroxidation.	Tiepo et al. (2018)
<i>Oryza sativa</i> (rice)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (SN13)	Control of water, saline and thermal stress	Accumulation of osmoprotectors and expression of marker genes; Increase in proline and soluble sugar content.	Tiwari et al. (2017)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Arabidopsis thaliana</i> (starweed)	<i>Pseudomonas simiae</i> WCS417, <i>Pseudomonas capeferrum</i> (WCS358), <i>Pseudomonas defensor</i> (WCS374)	Growth promotion	It produces volatile organic compounds (VOCs) which induce the MYB72 transcription factor.	Zamioudis et al. (2015)
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch. (licorice)	<i>Bacillus pumilus</i>	Water stress control	Improves the integrity of the cellular structure of the chloroplast and mitochondria. Increase in chlorophyll content, photosynthetic parameters and water use efficiency.	Zhang et al. (2019)
<i>Triticum</i> sp. (wheat)	<i>Proteus mirabilis</i> R2, <i>Pseudomonas balearica</i> RF-2 e <i>Cronobacter sakazakii</i> RF-4	Growth promotion and water stress control	Growth promotion and water stress control Increased plant growth, leaf area and biomass under water stress. Higher water content; Reduction of cell injury and electrolyte leakage, greater stability of the cell membrane. Greater expression of APX and RBC cytosolic genes. Increased SOD activity.	Zia et al. (2021)
<i>Arachis hypogaea</i> (peanut)	<i>Brachybacterium saurashtrense</i> (JG06)	Growth promotion	Increased shoot and root length, fresh and dry mass. Increase in total chlorophyll and carotenoids. Low electrolyte leakage and lipid peroxidation, high membrane stability and higher total amino acid content. 263 genes were expressed.	Alexander et al. (2021)
<i>Saccharum officinarum</i> (sugar cane)	<i>Bacillus xiamenensis</i> (PM14)	Growth promotion and biological control	Increase in fresh mass, root length, plant height, length and diameter of sugar cane; Increase in antioxidant enzymes, photosynthetic pigments (chlorophylls and carotenoids) and proline content can lead to induced systemic resistance against red rot.	Amna et al. (2020)
<i>Triticum aestivum</i> L. (wheat)	<i>Alcaligenes faecalis</i> (SBN01) e <i>Alcaligenes faecalis</i> (SBN02)	Salt stress control	Increase in CAT, gelatinase and ammonia; Increased growth parameters and plant biomass, decreasing lipid peroxidation induced by ROS, while increasing the accumulation of osmolytes, photosynthetic pigments and improving photosystem II.	Babar et al. (2021)
<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam. (Sweetpotato)	<i>Bacillus cereus</i> (P31) e <i>Achromobacter xylosoxidans</i> (P35)	Growth promotion	Increase in all vegetative parameters (shoot length, root length, fresh and dry mass of shoot and root) Increase in chlorophylls and carotenoids; Significant increase in N, K and P contents.	Dawwam et al. (2013)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC. (mucuna)	<i>Enterobacter</i> (HS9) e <i>Bacillus</i> (G9)	Water stress control	Increase in total biomass and water use efficiency Lower ACC deaminase content in roots, resulting in lower ethylene emission in roots; Maintains higher levels of isoprene emission, protecting leaves from oxidative damage; Maintains carbon assimilation during the progression of water stress.	Brunetti et al. (2021)
<i>Sorghum bicolor</i> (sorghum)	<i>Bacillus cereus</i> (TCR17), <i>Providencia rettgeri</i> (TCR21) e <i>Myroides odoratimimus</i> (TCR22)	Metal stress control	Increased plant growth, antioxidant status (SOD, CAT and APX) and decreased proline and malonaldehyde contents in plants under Chromium. Reduces stress-induced oxidative damage. Reduces the accumulation of Chromium Regulates the expression of antioxidant-related synthesis genes (SOD, APX and CAT) and stress tolerance genes (sHsp).	Bruno et al. (2020)
<i>Ocimum basilicum</i> L. (basil)	<i>Pseudomonas</i> sp. (S1), <i>Bacillus lentus</i> (S2) e <i>Azospirillum brasilens</i> (S3)	Control of water stress	Improves growth, antioxidant status and photosynthetic pigments Significantly improves the activity of CAT, GPX, APX enzymes and chlorophyll content.	Heidari e Golpayegani (2012)
<i>Glycine max</i> (L) Merrill (soybean)	<i>Pseudomonas putida</i> (H-2-3)	Growth promotion, water and saline stress control	Increase in the length of the aerial part and fresh mass; Higher chlorophyll content in plants exposed to salt and drought. Increase in ABA content; Reduction of sodium (Na) content in plants under saline stress.	Kang et al. (2014)
<i>Saccharum officinarum</i> (sugar cane)	<i>Paraburkholderia tropica</i> (IAC/BECa 135), <i>Herbaspirillum frisingense</i> (IAC/BECa 152), <i>Pseudomonas fluorescens</i> (IAC/BECa141) e <i>Kosakonia radicincitans</i> (IAC/BECa 95)	Growth promotion and metal stress control	Improves seedling fitness under conditions of nutritional limitation and Al stress, modulating nutritional and Al homeostasis. Changes in Al allocation and calcium (Ca) and boron (B) content between different parts of the plant (root or shoot).	Labanca et al. (2020)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Zea mays</i> L. (maize)	<i>Kocuria rhizophila</i> Y1	Salt stress control	Regulates levels of plant hormones AIA and ABA and improves nutrient acquisition; Improves biomass production, seed germination rate; Improves photosynthetic capacity, antioxidant levels, relative water content and chlorophyll accumulation. Lower Na ⁺ levels and electrolyte leakage Higher transcription levels of ZmGR1, ZmAPX1 genes ZmNHX1, ZmNHX2, ZmNHX3, ZmWRKY58 and ZmDREB2A.	Li et al. (2020)
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomato)	<i>Bacillus velezensis</i> FMH2	Salt stress control	Increase in biomass and chlorophyll content Reduces Na ⁺ absorption and maintains membrane integrity, reducing lipid peroxidation and increasing the production of antioxidants; decreases K ⁺ and Ca ²⁺ losses in root and leaf tissues.	Masmoudi et al. (2021a)
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomato)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (G20-18)	Growth promotion and water stress control	Growth promotion and water stress control Increased chlorophyll content, decreased stomatal conductance, systemic alteration of ABA content, increased activity of carbohydrate metabolism enzymes, increased antioxidant metabolism enzymes, increased total antioxidant capacity and accumulation of metabolites secondary, and quantitative and qualitative changes in gene expression.	Mekureyaw et al. (2022)
<i>Oryza sativa</i> (rice)	<i>Bacillus altitudinis</i> (FD48) e <i>Bacillus methylotrophicus</i> (RABA6)	Water stress control	Increase in photosynthetic pigments and proline Regulation of ROS quenching enzymes that aid resilience to water stress, such as: increased activity of ROS quenching enzymes, such as CAT, SOD, APX and POD. Increased harvest index, productive tillers and grain mass.	Narayanasamy et al. (2020)
<i>Zea mays</i> L. (maize)	<i>Azotobacter</i> sp. (C5, C7, C8 e C9)	Salt stress control	Salt stress control Improves Na ⁺ exclusion and K ⁺ absorption Increased polyphenol and chlorophyll content; Increased proline concentration in leaves due to salinity.	Rojas-Tapias et al. (2012)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Vigna unguiculata</i> [L.] Walp (cowpea)	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (cepa UFLA 03-84), <i>Actinomadura</i> sp. (cepa 183-EL), <i>Paenibacillus graminis</i> (cepa MC 04.21), <i>Bacillus</i> sp. (cepa IPACC11)	Salt stress control	Salt stress control Lower H ₂ O ₂ content in your nodules, Significant changes in the total, reduced and oxidized forms of ascorbate and glutathione. Increased SOD, CAT and phenol peroxidase activities.	Santos et al. (2018)
<i>Mentha piperita</i> (pepper mint)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (WCS417) e <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (GB03)	Water stress control	Increase in total phenolic content; Greater enzymatic activities; Lower proline content; Decreased membrane lipid peroxidation.	Chiappero et al. (2019)
<i>Oryza sativa</i> (rice)	<i>Pseudomonas stutzeri</i> e <i>Cupriavidus taiwanensis</i>	Heavy metal stress control	All bacterial strains increase the activities of antioxidant enzymes, including SOD, CAT, APX, GPX and GR Increase in growth parameters and lower arsenic levels in the roots, shoots and throughout the plant.	Thongnok et al. (2022)
<i>Cucumis sativus</i> L. (cucumber)	<i>Bacillus velezensis</i> (SX13), <i>Bacillus paralicheniformis</i> (SX21) e <i>Bacillus tequilensis</i> (SX31)	Growth Promotion	Improved root structures, photosynthetic parameters, increased growth rate and high degree of biomass accumulation. Higher seedling growth rate. Upregulates CsNRT1 in roots. Increase in absorption and transport rates of elements (RUBISCO, SS, PEP carboxylase and aldolase) and nitrogen metabolism (including NADPH, GS, GOGAT and GDH) in leaves. Increased levels of glucose, sucrose, fructose, soluble proteins and amino acids increased in the leaves.	Wang et al. (2022)
<i>Solanum lycopersicum</i> Mill. (tomato)	<i>Serratia proteamaculans</i>	Growth promotion and biological control	Suppression of fungal growth. Improved tomato growth and chlorophyll content; Increased activity of plant defense enzymes and pathogenesis-related proteins, including GPX, SOD, PAL and β -1,3 glucanase.	Youssef et al. (2018)
<i>Seidlitzia rosmarinus</i>	<i>Bacillus pumilus</i> (HR0 e <i>Zhihengliuella halotolerans</i> (SB)	Control of salt stress and productivity	Increase in the content of chlorophyll, proteins, Fe, Mg and Mn; Increase in total dry biomass; Improvement in the quality index of seedlings; Increase in catalase activity, anthocyanin content; Increase in antioxidant levels. Increased quantity and quality of forage.	Zilaie et al (2022)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Beta vulgaris</i> L. (beet)	<i>Streptomyces bellus</i> MW797036 (SB) e <i>Streptomyces saprophyticus</i> MW797316 (SS)	Growth promotion and biological control	Growth promotion and biological control Increase in dry biomass of the shoot and root; Higher levels of P and K in leaves and soil Protection effect of up to 100% respectively infested by <i>F. equiseti</i> and <i>F. fujikuroi</i> .	Aallam et al. (2022)
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomato)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (S23, S24, S26 e S28) <i>Bacillus</i> sp. (SV81), <i>Azotobacter chroococcum</i> (S11) e <i>Serratia marcescens</i> S14)	Biological control	Reduces the severity of the disease; Production of released diffusible and volatile metabolites limited the radial growth of the pathogen	Aydi-Ben-Abdallah et al. (2020)
<i>Chlorophytum borivillianum</i> (Safed Musli)	<i>Brachybacterium paraconglomeratum</i> (SMR20)	Salt stress control	Decreased stress ethylene production; Delays chlorosis and senescence which results in better plant performance; Increase in the amount of total leaf pigments and proline; Improves foliar absorption of nutrients.	Barnawal et al. (2016)
<i>Zea mays</i> L. (maize)	<i>Azospirillum brasilense</i> (Az39)	Productivity	Increase in productivity Increase in total chlorophyll content; Less damage to membranes in treatment with foliar inoculation, when associated with herbicides;	Cardozo et al. (2022)
<i>Saccharum officinarum</i> (sugar cane)	<i>Bacillus subtilis</i> (BSSC11) e <i>Bacillus megaterium</i> (BMSE7)	Growth promotion and water stress control	Improves nutrient levels; Improved early sprouting, increased vigor (greater fresh and dry mass of the shoot and root). Improved capacity of the antioxidant enzymatic system, with expression of SOD isoforms; Higher proline content in plants exposed to drought.	Chandra et al. (2018)
<i>Saccharum officinarum</i> (sugar cane)	<i>Bacillus subtilis</i> (B9)	Growth promotion	Growth promotion Promotes growth by increasing N, P and K content. Improves photosynthetic rate, root development and chlorophyll content Cotyledon and hypocotyl of sugarcane buds germinated more quickly.	Di et al. 2022
<i>Zea mays</i> L. (maize)	<i>Bacillus</i> sp.	Growth promotion and alkaline stress control (others)	Improvement in photosynthetic pigment levels and soluble sugar content; Decreases proline level under stress conditions. Significantly improved soil enzymes such as dehydrogenase, alkaline phosphatase and beta-glucosidase.	Dixit et al. (2020)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Oryza sativa</i> (rice)	<i>Bacillus megaterium</i> CCMMB583 <i>Bacillus subtilis</i> KJB06	Promotion of growth, productivity and water stress control Improved growth;	Increased levels of photosynthetic pigments, membrane stability index, relative water content, chlorophyll fluorescence, stomatal conductance, total phenols, POD, PPO, nitrogen content.	EI-Mageed et al. (2022)
<i>Oryza sativa</i> (rice)	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> cepa Pal5 (BR 11281, ATCC49037)	Water stress control	Increase in dry biomass in shoots and roots Greater control of stomatal conductance, transpiration, and net photosynthesis; Increase in free proline levels Increase in the number of panicles per pit and crude protein; Alters the activities of the main enzymes SOD, CAT and APX.	Filgueiras et al. (2020)
<i>Cucumis sativus</i> L. (cucumber)	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> (G5)	Growth promotion and salt stress control	Increase in shoot height, root length, fresh and dry mass, total chlorophyll content and soluble sugar content. Increased SOD, POD and PPO activity; Reduces H ₂ O ₂ and MDA levels.	Ge e Zhang (2019)
<i>Glycine max</i> (L.) Merr (1) (soy); <i>Lolium multiflorum</i> Lam. (2) (azevém)	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (YL-6)	Growth promotion and heavy metal stress control	Increase in the levels of photosynthetic pigments and mineral nutrients (Fe or Mg) in plant leaves; Increase in dry weights of ryegrass shoots Increased cadmium concentrations in ryegrass root Cadmium concentration in soybean roots and shoots decreased.	Guo e Chi (2014)
<i>Pisum sativum</i> L. (pea)	<i>Bacillus marisflavi</i> (CHR JH 203) e <i>Bacillus cereus</i> (BST YS1_42)	Salt stress control	Increased plant biomass, carbohydrates, reducing sugars, proteins, chlorophylls, phenol, flavonoid content and increasing levels of antioxidant enzymes. Expression of ROS scavenging genes (PsSOD, PsCAT, PsPOX, PsNOS, PsAPX, PsChla/bBP), defense genes and cell rescue genes (PsPRP, PsMAPK, PsFDH); Higher level of gene expression and salt tolerance.	Gupta et al. (2021)
<i>Solanum tuberosum</i> (potato)	<i>Bacillus pumilus</i> e <i>Bacillus firmus</i> str.	Control of salt, water and heavy metal stress	Increased expression levels of ROS scavenging enzymes, APX, SOD, CAT, DHAR and GR. Proline accumulation Increase in photosynthetic efficiency	Gururani et al. (2013)
<i>Vigna radiata</i> L. (bean)	<i>Bacillus cereus</i> (Pb25)	Control of salt stress and productivity	Increases growth, fresh and dry biomass of roots and shoots; Relief from oxidative damage. Increased POD, SOD and CAT activities; Increase in proline accumulation, potassium, nitrogen and phosphorus.	Islam et al. (2016)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Zea mays</i> L. (maize)	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> (YJ4) e <i>Lysinibacillus sphaericus</i> (YJ5)	Thermal stress control	Induces resistance to osmotic and oxidative stress due to cold, by upregulating osmolytes, phenolics (proline, glycine betaine, soluble sugars and phenolic content), phytohormones (auxin, gibberellin and ACC deaminase and the lower ABA content) and antioxidant enzymes (SOD, CAT and PAL).	Jha e Mohamed, (2022)
<i>Glycine max</i> (L) Merrill (soybean)	<i>Curtobacterium</i> sp. (SAK1)	Salt stress control	Increase of different GA and organic acids Increase in IAA and GAs content and number of root tips, improving nutrient absorption by plants. Relief from polyphenolic oxidase and peroxidase; Deamination of ACC, leading to ethylene reduction.	Khan et al. (2019b)
<i>Glycine max</i> (L) Merrill (soybean)	<i>Bacillus aryabhatai</i> (ALT29) e <i>Arthrobacter woluwensis</i> (ALT43)	Salt stress control	Regulation of endogenous phytohormones (ABA and SA), antioxidants (GSH, LPO, TPP, PPO and POD); Greater absorption of ions (Na and K); Gene expression (GmFLD19 and GmNARK).	Khan et al. (2021)
<i>Glycine max</i> (L) Merrill (soybean)	<i>Klebsiella variicola</i> (AY13)	Water stress control	Induces adventitious root initiation. Reduces flooding stress by improving chlorophyll content, chlorophyll fluorescence quantum efficiency during and after flooding stress.	Kim et al. (2017a)
<i>Glycine max</i> (L) Merrill (soybean)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (H-2-5)	Growth promotion and salt stress	Regulation of phytohormones (GA and ABA) and proline content in salt-tolerant soybean plants.	Kim et al. (2017b)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. (bean)	<i>Bacillus megaterium</i> CFBP486 (BM) e <i>Bacillus amylolequefaciens</i> CFBP486 (BM)	Ozone Stress Control (others)	Greater activity of the ACC deaminase enzyme and chlorophyll a fluorescence; Increase in biomass; Improves O ₃ stress by inducing systemic resistance;	Kittipornkul et al. (2021)
<i>Triticum aestivum</i> L. (wheat)	<i>Pseudomonas libanensis</i> (EU-LWNA-33)	Growth promotion and water stress	Increase in shoot length, root length, fresh mass and dry mass of wheat at both moisture levels; Increased proline, glycine betaine at all levels of moisture stress;	Kour et al. (2019)
<i>Zea mays</i> L. (maize)	<i>Bacillus aquimaris</i> (DY-3)	Salt stress control	Increase in chlorophyll content, relative water content in the leaf, accumulation of proline, soluble sugar and total phenolic compound. Increase in SOD, CAT, POD and APX activities. Decrease in lipid peroxidation and Na ⁺ levels.	Li e Jiang, (2017)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Arabidopsis thaliana</i> (starweed)	<i>Herbaspirillum seropedicae</i> (HRC54)	Growth promotion	Increase in leaf area, fresh and dry mass of shoots and roots Expression of proteins involved in the redox state of the chloroplast, including 9 photosynthesis-related proteins: TL29, CB5-E, GPX1, CSD2, TRX-M4, PRXQ, THM1, TRXF1 and ATHM2 Expression of defense-related proteins: Methionine Sulfoxide Reductase B2 (MSRB2), Actin Depolymerizing Factor 3 (ADF3) and PR-5 (pathogenesis-related-5), cysteine-rich secretory protein (CAP) and repeat family protein rich in leucine (LRR).	Leandro et al. (2019)
<i>Poa annua</i> L. (dog hair)	<i>Paenibacillus tundrae</i> (TS19), <i>Bacillus mycoides</i> (TS26) e <i>Brevibacterium frigoritolerans</i> (TS22)	Water stress control	Improves underground dry biomass and root-to-shoot ratio Increase in the ROS content in the plant leaf with the deepening of water stress.	Li et al. (2022)
<i>Peganum harmala</i> L. (rue) (1) <i>Lactuca sativa</i> L. (lettuce) (2)	<i>Mesorhizobium tamadayense</i> (BKM 04), <i>Enterobacter xiangfangensis</i> (BKM 30), <i>Pseudomonas azotifigens</i> (BKM 07) e <i>Streptomyces caelestis</i> (BKM 05)	Control of salt stress and heavy metals	Root and shoot lengthening Greater amount of IAA produced in non-stressed and stressed conditions was recorded for three strains; Accumulation of osmolytes (sugars, amino acids and proline) and exopolysaccharides.	Madline et al (2021)
<i>Vicia faba</i> L. (lima bean)	<i>Bacillus subtilis</i> (AR5) e <i>Bacillus thuringiensis</i> (BR1)	Saline stress control	Improves plant height, aerial part dry mass, proline content, enzymatic activities. Accumulation of mineral nutrients in the aerial part of plants. Increased activities of APX, GSH, CAT, POD, PPO, SOD, and AA; Increase in the ascorbate-glutathione redox cycle.	Mahgoub et al. (2021)
<i>Solanum lycopersicum</i> var. Rio grandi (tomato)	<i>Bacillus spizizenii</i> (FMH45)	Growth promotion and salt stress control	Improves biomass growth, reducing Na ⁺ absorption; Increasing chlorophyll levels and maintaining membrane integrity; Reduces lipid peroxidation and improves the production of antioxidants. Increased POX activity Reduces the production of H ₂ O ₂ and MDA.	Masmoudi et al. (2021b)
<i>Medicago sativa</i> L.	<i>Serratia rubidaea</i> (A) e <i>Pseudomonas putida</i> (B), <i>Serratia</i> sp. (C) mais <i>Synorhizobium meliloti</i> (R)	Abiotic stress control by herbicide (others)	Increase in the microbial population; Increased plant biomass and antioxidant activities. H ₂ O ₂ reduction MDA Reduction Increased CAT, APX and GPX	Motamedi et al. (2022)

Species	Bacteria	Purposes	Physiological changes	Reference
<i>Oryza sativa</i> L. (rice)	<i>Herbaspirillum seropedicaea</i>	Growth promotion	Stimulates root vacuolar H ⁺ pumps (vacuolar H ⁺ -ATPase and vacuolar H ⁺ -PPase) and Increased plant growth (biomass), macronutrient content (N, P, K, Ca, Mg and S), micronutrients (Fe, B, Cu, Mo, Ni, Zn) and photosynthetic efficiency.	Ramos et al. (2020)
<i>Solanum lycopersicum</i> L. (tomato)	<i>Pseudomonas geniculata</i> (B11), <i>Achromobacter</i> sp. (B124), <i>Bacillus megaterium</i> (P2), <i>Lysinibacillus sphaericus</i> (B19) e <i>Bacillus cereus</i> (B40)	Salt stress control	Increase in dry mass of shoots and roots Modulates defense mechanisms; Improvement in stomatal conductance, proline content and Na ⁺ /K ⁺ ratio in plant tissues. Increase in proline content and sodium content.	Naseri et al. (2022)
<i>Brassica napus</i> L. (canola)	<i>Enterobacter</i> sp. (S16-3) e <i>Pseudomonas</i> sp. (C16-2 ^o)	Salt stress control	Relief of salt stress by IAA and ABA. Increase in leaf area, root length; Improves chlorophyll fluorescence indexes, relative water content, electrolyte leakage index, photosynthetic pigments (chlorophyll a, b and carotenoids), Na ⁺ and K ⁺ Improvement of biochemical parameters such as MDA content, H ₂ O ₂ content, Improvement in total protein content, proline and antioxidant enzyme activities.	Neshat et al. (2022)

ABA – Abscisic acid; ACC deaminase - 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase; APx – Ascorbate peroxidase; AA – Ascorbic acid; AUDPC – Area Under the Disease Progress Curve; CAT – Catalase; ROS – Reactive Oxygen Species; GAs – Gibberelins; GDH – Glutamate dehydrogenase; GOGAT – Glutamate synthase; GPx – Glutathione Peroxidase; GPOX – Guaiacol peroxidase; GR – Glutathione Reductase; GS – Glutamine synthetase; GSH – Glutathione; IAA- Indole acetic acid; LPO – Lipid peroxidation; MDA – Malondialdehyde; NADPH – Nitrate reductase; PAL – Phenyl alanine ammonia lyase; POD – Peroxidase; POX – Phenol peroxidase; PPC – Phosphoenol pyruvate carboxylase; PPO – Polyphenol oxidase; RUBISCO – Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; SA – Salicylic acid; SOD – Superoxide dismutase.

REFERENCES

AALLAM, Y.; DHIBA, D.; EL RASAFI, T.; LEMRISS, S.; HADDIOUI, A.; TARKKA, M.; HAMDALI, H. Growth promotion and protection against root rot of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by two rock phosphate and potassium solubilizing *Streptomyces* spp. under greenhouse conditions. **Plant and Soil**, v. 472, n. 1, p. 407-420, 2022.

ABBAS, R.; RASUL, S.; ASLAM, K.; BABER, M.; SHAHID, M.; MUBEEN, F.; NAQQASH, T. Halotolerant PGPR: A hope for cultivation of saline soils. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31, n. 4, p. 1195-1201, 2019.

ABDELKRIM, S.; JEBARA, S.; SAADANI, O.; JEBARA, M. Potentialities of efficient and resistant plant growth promoting rhizobacteria in Pb uptake and defensive system stimulation of *Lathyrus sativus* under lead stress. **Plant Biology**, v. 5, p. 857, 2018.

ABO-ELYOUSR, K. A.; KHALIL BAGY, H. M.; HASHEM, M.; ALAMRI, S. A.; MOSTAFA, Y. S. Biological control of the tomato wilt caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* using formulated plant growth-promoting bacteria. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2019.

ADHIKARI, M.; YADAV, D. R.; KIM, S. W.; UM, Y. H.; KIM, H. S.; LEE, S. C.; SONG, J. Y.; KIM, H. G.; LEE, Y. S. Biological control of bacterial fruit blotch of watermelon pathogen (*Acidovorax citrulli*) with rhizosphere associated bacteria. **The Plant Pathology Journal**, v. 33, n. 2, p. 170, 2017.

ALAVI, P.; STARCHER, M. R.; ZACHOW, C.; MULLER, H.; BERG, G. Root microbe systems: the effect and mode of interaction of stress protecting agent SPA *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405T. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 141, 2013.

ALEXANDER, A.; SINGH, V. K.; MISHRA, A. Interaction of the novel bacterium *Brachybacterium saurashtrense* JG06 with *Arachis hypogaea* leads to changes in physio-biochemical activity of plants to cope with nitrogen starvation conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 166, p. 974-984, 2021.

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.

ALORI, E. T.; BABALOLA, OLUBUKOLA O.; PRIGENT-COMBARET, C. Impacts of microbial inoculants on the growth and yield of maize plant. **The Open Agriculture Journal**, v. 13, n. 1, 2019.

AMBONI, E. **Os 4 países que mais produzem alimentos agrícolas**. Disponível em: <https://societificacom.br/paises-que-mais-produzem-alimentos/#:~:text=O%20Brasil%20foi%20o%20quarto,mais%20produzem%20alimentos%20no%20mundo>. Disponível em: 05 jan. 2023.

AMNA; XIA, Y.; FAROOQ, M. A.; JAVED, M. T.; KAMRAN, M. A.; MUKHTAR, T.; ALI, J.; TABASSUM, T.; REHMAN, S. U.; MUNIS, M. F. H.; SULTAN, T.;

CHAUDHARY, H. J. Multi-stress tolerant PGPR *Bacillus xiamenensis* PM14 activating sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) red rot disease resistance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 151, p. 640-649, 2020.

ANPII - ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES E IMPORTADORES DE INOCULANTES. **Reunião debate desafios e oportunidades para inoculantes microbianos no Brasil**. Disponível em: <http://www.anpii.org.br/reuniao-debate-desafios-e-oportunidades-para-inoculantes-microbianos-no-brasil/>. Acesso em: 05 Jan. 2023.

ASHA, A. D.; NIVETHA, N.; KRISHNA, G. K.; THAKUR, J. K.; RATHI, M. S.; MANJUNATHA, B. S.; CHINNUSAMY, V.; PAUL, S. Amelioration of short-term drought stress during different growth stages in Brassica juncea by rhizobacteria mediated maintenance of ROS homeostasis. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 4, p. 1880-1893, 2021.

AYDI-BEN-ABDALLAH, R.; JABNOUN-KHIAREDDINE, H.; DAAMI-REMADI, M. *Fusarium* wilt biocontrol and tomato growth stimulation, using endophytic bacteria naturally associated with Solanum sodomaeum and *S. bonariense* plants. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, p. 1-13, 2020.

BABAR, M.; RASUL, S.; ASLAM, K.; ABBAS, R.; MANZOOR, I.; HANIF, M. K.; NAQQASH, T. Mining of halo-tolerant plant growth promoting rhizobacteria and their impact on wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline conditions. **Journal of King Saud University-Science**, v. 33, n. 3, p. 101372, 2021.

BARNAWAL, D.; BHARTI, N.; PANDEY, S. S.; PANDEY, A.; CHANOTIYA, C. S.; KALRA, A. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance wheat salt and drought stress tolerance by altering endogenous phytohormone levels and TaCTR1/TaDREB2 expression. **Physiologia plantarum**, v. 161, n. 4, p. 502-514, 2017.

BARNAWAL, D.; BHARTI, N.; TRIPATHI, A.; PANDEY, S. S.; CHANOTIYA, C. S.; KALRA, A. ACC-deaminase-producing endophyte *Brachy bacterium paraconglomeratum* strain SMR20 ameliorates Chlorophytum salinity stress via altering phytohormone generation. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 2, p. 553-564, 2016.

BASU, A.; PRASAD, P.; DAS, S. N.; KALAM, S.; SAYYED, R. Z.; REDDY, M. S.; EL ENSHASY, H. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. **Sustainability**, v. 13, n. 3, p. 1140, 2021.

BLAKE, C.; CHRISTENSEN, M. N.; KOVÁCS, Á. T. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 34, n. 1, p. 15-25, 2021.

BORRISS, R. *Bacillus*, a plant-beneficial bacterium. In: LUGTENBERG, B. (eds) **Principles of Plant-Microbe Interactions**. Springer, 2015. p. 379-391.

BRUNETTI, C.; SALEEM, A. R.; DELLA ROCCA, G.; EMILIANI, G.; DE CARLO, A.; BALESTRINI, R.; KHALID, A.; MAHMOOD, T.; CENTRITTO, M. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria strains producing ACC deaminase on photosynthesis, isoprene emission, ethylene formation and growth of *Mucuna pruriens* (L.) DC. in response to water deficit. **Journal of Biotechnology**, v. 331, p. 53-62, 2021.

BRUNO, L. B.; KARTHIK, C.; MA, Y.; KADIRVELU, K.; FREITAS, H.; RAJKUMAR, M. Amelioration of chromium and heat stresses in *Sorghum bicolor* by Cr⁶⁺ reducing-thermotolerant plant growth promoting bacteria. **Chemosphere**, v. 244, p. 125521, 2020.

BUENO, A. C. S. O.; CASTRO, G. L. S.; SILVA JUNIOR, D. D.; PINHEIRO, H. A.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Response of photosynthesis and chlorophyll a fluorescence in leaf scald-infected rice under influence of rhizobacteria and silicon fertilizer. **Plant Pathology**, v. 66, n. 9, p. 1487-1495, 2017.

CARDOZO, P.; DI PALMA, A.; MARTIN, S.; CERLIANI, C.; ESPOSITO, G.; REINOSO, H.; TRAVAGLIA, C. Improvement of maize yield by foliar application of *Azospirillum brasilense* Az39. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 41, n. 3, p. 1032-1040, 2022.

CHANDRA, P.; TRIPATHI, P.; CHANDRA, A. Isolation and molecular characterization of plant growth-promoting *Bacillus* spp. and their impact on sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) growth and tolerance towards drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 11, p. 1-15, 2018.

CHIAPPERO, J.; DEL ROSARIO CAPPELLARI, L.; ALDERETE, L. G. S.; PALERMO, T. B.; BANCHIO, E. Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. **Industrial Crops and Products**, v. 139, p. 111553, 2019.

DAWWAM, G. E.; ELBELTAGY, A.; EMARA, H. M.; ABBAS, I. H.; HASSAN, M. M. Beneficial effect of plant growth promoting bacteria isolated from the roots of potato plant. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 58, n. 2, p. 195-201, 2013.

DELATORRE, C. A.; SILVA, A. A. da. *Arabidopsis thaliana*: uma pequena planta um grande papel. **Revista de Ciências Agrárias**. v. 31, n. 2, p. 58-67, 2008.

DI, Y. N.; KUI, L.; SINGH, P.; LIU, L. F.; XIE, L. Y.; HE, L. L.; LI, F. S. Identification and Characterization of *Bacillus subtilis* B9: A Diazotrophic Plant Growth-Promoting Endophytic Bacterium Isolated from Sugarcane Root. **Journal of Plant Growth Regulation**, p. 1-18, 2022.

DIMKIĆ, I.; JANAKIEV, T.; PETROVIĆ, M.; DEGRASSI, G.; FIRA, D. Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms-A review. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 117, p. 101754, 2022.

DIXIT, V. K.; MISRA, S.; MISHRA, S. K.; TEWARI, S. K.; JOSHI, N.; CHAUHAN, P. S. Characterization of plant growth-promoting alkalotolerant *Alcaligenes* and *Bacillus* strains for mitigating the alkaline stress in *Zea mays*. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 113, n. 7, p. 889-905, 2020.

DONI, F.; SUHAIMI, N. S. M.; MISPAN, M. S.; FATHURRAHMAN, F.; MARZUKI, B. M.; KUSMORO, J.; UPHOFF, N. Microbial contributions for rice production: From conventional crop management to the use of 'omics' technologies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, p. 737, 2022.

DUBEY, P. K.; SINGH, A.; MERAH, O.; ABHILASH, P. C. Managing agroecosystems for food and nutrition security. **Current Research in Environmental Sustainability**, v. 4, p. 100127, 2022.

EID, A. M.; FOUUDA, A.; ABDEL-RAHMAN, M. A.; SALEM, S. S.; ELSAIED, A.; OELMÜLLER, R.; HIJRI, M.; BHOWMIK, A.; ELKELISH, A.; HASSAN, S. E. D. Harnessing bacterial endophytes for promotion of plant growth and biotechnological applications: an overview. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 935, 2021.

EL-MAGEED, A.; TAIA, A.; EL-MAGEED, A.; SHIMAA, A.; EL-SAADONY, M. T.; ABDELAZIZ, S.; ABDYOU, N. M. Plant growth-promoting rhizobacteria improve growth, morph-physiological responses, water productivity, and yield of rice plants under full and deficit drip irrigation. **Rice**, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2022.

ELNAHAL, A. S.; EL-SAADONY, M. T.; SAAD, A. M.; DESOKY, E. S. M.; EL-TAHAN, A. M.; RADY, M. M.; ABUQAMAR S. F. EL-TARABILY, K. A. The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: A review. **European Journal of Plant Pathology**, v. 162, p. 1-34, 2022.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja em números (safra 2021/22)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 05 Jan. 2023.

ETESAMI, H; MAHESHWARI, D. K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 156, p. 225-246, 2018.

FENG, K.; CAI, Z.; DING, T.; YAN, H.; LIU, X.; ZHANG, Z. Effects of potassium-solubilizing and photosynthetic bacteria on tolerance to salt stress in maize. **Journal of Applied Microbiology**, v. 126, n. 5, p. 1530-1540, 2019.

FILGUEIRAS, L.; SILVA, R.; ALMEIDA, I.; VIDAL, M.; BALDANI, J. I.; MENESES, C. H. S. G. *Gluconacetobacter diazotrophicus* mitigates drought stress in *Oryza sativa* L. **Plant and Soil**, v. 451, n. 1, p. 57-73, 2020.

GARCÍA-CRISTOBAL, J.; GARCÍA-VILLARACO, A.; RAMOS, B.; GUTIERREZ-MAÑERO, J.; LUCAS, J. A. Priming of pathogenesis related-proteins and enzymes related to oxidative stress by plant growth promoting rhizobacteria on rice plants upon

abiotic and biotic stress challenge. **Journal of Plant Physiology**, v. 188, p. 72-79, 2015.

GARCIA-LEMONS, A. M.; GROBKINSKY, D. K.; SALEEM AKHTAR, S.; NICOLAISEN, M. H.; ROITSCH, T.; NYBROE, O.; VEIERSKOV, B. Identification of root-associated bacteria that influence plant physiology, increase seed germination, or promote growth of the christmas tree species *Abies nordmanniana*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 122-135, 2020.

GE, H.; ZHANG, F. Growth-promoting ability of *Rhodopseudomonas palustris* G5 and its effect on induced resistance in cucumber against salt stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, n. 1, p. 180-188, 2019.

GHORBANPOUR, M.; HATAMI, M.; KARIMAN, K.; ABBASZADEH DAHAJI, P. Phytochemical variations and enhanced efficiency of antioxidant and antimicrobial ingredients in *Salvia officinalis* as inoculated with different rhizobacteria. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 3, p. 319-330, 2016.

GLICK, B. R. Modulating phytohormone levels. In: GLICK, B. R. (eds). **Beneficial Plant-Bacterial Interactions**. Springer, 2020. p. 139-180.

GLICK, B. R.; NASCIMENTO, F. X. *Pseudomonas* 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) Deaminase and Its Role in Beneficial Plant-Microbe Interactions. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, p. 2467, 2021.

GOWTHAM, H. G.; SINGH, S. B.; SHILPA, N.; AIYAZ, M.; NATARAJ, K.; UDAYASHANKAR, A. C.; AMRUTHESH, K. N.; MURALI, M.; POCZAI, P.; GAFUR, A.; ALMALKI, W. H. Insight into Recent Progress and Perspectives in Improvement of Antioxidant Machinery upon PGPR Augmentation in Plants under Drought Stress: A Review. **Antioxidants**, v. 11, n. 9, p. 1763, 2022.

GUO, J.; CHI, J. Effect of Cd-tolerant plant growth-promoting rhizobium on plant growth and Cd uptake by *Lolium multiflorum* Lam. and *Glycine max* (L.) Merr. in Cd-contaminated soil. **Plant and Soil**, v. 375, n. 1, p. 205-214, 2014.

GUPTA, A.; BANO, A.; RAI, S.; KUMAR, M.; ALI, J.; SHARMA, S.; PATHAK, N. ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in *Pisum sativum*. **3 Biotech**, v. 11, n. 12, p. 1-17, 2021.

GURURANI, M. A.; UPADHYAYA, C. P.; BASKAR, V.; VENKATESH, J.; NOOKARAJU, A.; PARK, S. W. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *Solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, n. 2, p. 245-258, 2013.

HEIDARI, M.; GOLPAYEGANI, A. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 11, n. 1, p. 57-61, 2012.

HEYDARIAN, Z.; GRUBER, M.; COUTU, C.; GLICK, B. R.; HEGEDUS, D. D. Gene expression patterns in shoots of *Camelina sativa* with enhanced salinity tolerance

provided by plant growth promoting bacteria producing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase or expression of the corresponding *acdS* gene. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2021.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: DE BRUIJN, F. Ed. **Biological nitrogen fixation**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015. p.1005-1019.

HUSSAIN, A.; AHMAD, M.; NAFEES, M.; IQBAL, Z.; LUQMAN, M.; JAMIL, M.; MAQSOOD, A.; MORA-POBLETE, F.; AHMAR, S.; CHEN, J. T.; ALYEMENI, M. N.; AHMAD, P. Plant-growth-promoting *Bacillus* and *Paenibacillus* species improve the nutritional status of *Triticum aestivum* L. **PLoS One**, v. 15, n. 12, p. e0241130, 2020.

ISLAM, F.; YASMEEN, T.; ARIF, M. S.; ALI, S.; ALI, B.; HAMEED, S.; ZHOU, W. Plant growth promoting bacteria confer salt tolerance in *Vigna radiata* by up-regulating antioxidant defense and biological soil fertility. **Plant Growth Regulation**, v. 80, n. 1, p. 23-36, 2016.

JHA, Y.; MOHAMED, H. I. Inoculation with *Lysinibacillus fusiformis* Strain YJ4 and *Lysinibacillus sphaericus* Strain YJ5 Alleviates the Effects of Cold Stress in Maize Plants. **Gesunde Pflanzen**, p. 1-19, 2022.

JI, C.; WANG, X.; TIAN, H.; HAO, L.; WANG, C.; ZHOU, Y.; XU, R.; SONG, X.; LIU, Y.; DU, J.; LIU, X. Effects of *Bacillus methylotrophicus* M4-1 on physiological and biochemical traits of wheat under salinity stress. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 3, p. 695-711, 2020.

JIMÉNEZ-VÁZQUEZ, K. R.; GARCÍA-CÁRDENAS, E.; BARRERA-ORTIZ, S.; ORTIZ-CASTRO, R.; RUIZ-HERRERA, L. F.; RAMOS-ACOSTA, B. P.; CORIA-ARELLANO, J. L.; SAENZ-MATA, J.; LÓPEZ-BUCIO, J. The plant beneficial rhizobacterium *Achromobacter* sp. 5B1 influences root development through auxin signaling and redistribution. **The Plant Journal**, v. 103, n. 5, p. 1639-1654, 2020.

KANG, S. M.; RADHAKRISHNAN, R.; KHAN, A. L.; KIM, M. J.; PARK, J. M.; KIM, B. R.; PARK, J. M.; KIM, B. R.; SHIN, D. H.; LEE, I. J. Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 84, p. 115-124, 2014.

KANG, S. M.; RADHAKRISHNAN, R.; YOU, Y. H.; KHAN, A. L.; PARK, J. M.; LEE, S. M.; LEE, I. J. Cucumber performance is improved by inoculation with plant growth-promoting microorganisms. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science**, v. 65, n. 1, p. 36-44, 2014.

KARLIDAG, H.; ESITKEN, A.; TURAN, M.; SAHIN, F. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. **Scientia Horticulturae**, v. 114, n. 1, p. 16-20, 2007.

KAZEROONI, E. A.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S.; ADHIKARI, A.; AL-SADI, A. M.; KANG, S. M.; KIM, L. R.; LEE, I. J. Rhizospheric *Bacillus amyloliquefaciens* protects *Capsicum annuum* cv. Geumsugangsan from multiple abiotic stresses via

multifarious plant growth-promoting attributes. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 669693, 2021.

KHAN, M. A.; ASAF, S.; KHAN, A. L.; ULLAH, I.; ALI, S.; KANG, S. M.; LEE, I. J. Alleviation of salt stress response in soybean plants with the endophytic bacterial isolate *Curtobacterium* sp. SAK1. **Annals of Microbiology**, v. 69, n. 8, p. 797-808, 2019a.

KHAN, N.; BANO, A.; BABAR, M. A. Metabolic and physiological changes induced by plant growth regulators and plant growth promoting rhizobacteria and their impact on drought tolerance in *Cicer arietinum* L. *PLoS One*, v. 14, n. 3, p. 1-21, 2019b.

KHAN, M. A.; SAHILE, A. A.; JAN, R.; ASAF, S.; HAMAYUN, M.; IMRAN, M.; ADHIKARI, A.; KANG, S. M.; KIM, K. M.; LEE, I. J. Halotolerant bacteria mitigate the effects of salinity stress on soybean growth by regulating secondary metabolites and molecular responses. **BMC Plant Biology**, v. 21, n. 1, p. 1-15, 2021.

KHANGHAHI, M. Y.; STRAFELLA, S.; CRECCHIO, C. Changes in photo-protective energy dissipation of photosystem II in response to beneficial bacteria consortium in durum wheat under drought and salinity stresses. **Applied Sciences**, v. 10, n. 15, p. 5031, 2020.

KIM, A. Y.; SHAHZAD, R.; KANG, S. M.; SEO, C. W.; PARK, Y. G.; PARK, H. J.; LEE, I. J. IAA-producing *Klebsiella variicola* AY13 reprograms soybean growth during flooding stress. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 20, n. 4, p. 235-242, 2017a.

KIM, M. J.; RADHAKRISHNAN, R.; KANG, S. M.; YOU, Y. H.; JEONG, E. J.; KIM, J. G.; LEE, I. J. Plant growth promoting effect of *Bacillus amyloliquefaciens* H-2-5 on crop plants and influence on physiological changes in soybean under soil salinity. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, n. 3, p. 571-580, 2017b.

KITTIPORNKUL, P.; THIRAVETYAN, P.; DE CARLO, A.; BURKEY, K.; PAOLETTI, E. Different Capability of Native and Non-native Plant Growth-Promoting Bacteria to Improve Snap Bean Tolerance to Ozone. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 7, p. 1-13, 2021.

KOUR, D.; RANA, K. L.; SHEIKH, I.; KUMAR, V.; YADAV, A. N.; DHALIWAL, H. S.; SAXENA, A. K. Alleviation of drought stress and plant growth promotion by *Pseudomonas libanensis* EU-LWNA-33, a drought-adaptive phosphorus-solubilizing bacterium. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 90, n. 4, p. 785-795, 2020.

KOUR, D.; RANA, K. L.; YADAV, N.; YADAV, A. N.; KUMAR, A.; MEENA, V. S.; SINGH, B.; CHAUHAN, V. S.; DHALIWAL, H. S.; SAXENA, A. K. Rhizospheric Microbiomes: Biodiversity, Mechanisms of Plant Growth Promotion, and Biotechnological Applications for Sustainable Agriculture. *In*: KUMAR, A., MEENA, V. (eds) *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability*. Springer, 2019, 19–65.

KUAN, K. B.; OTHMAN, R.; ABDUL RAHIM, K.; SHAMSUDDIN, Z. H. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. **PloS One**, v. 11, n. 3, p. 1-19, 2016.

KWON, Y. S.; LEE, D. Y.; RAKWAL, R. BAEK, S. B.; LEE, J. H.; KWAK, Y. S. SEO, J. S.; CHUNG, W. S.; BAE, D. W; KIM, S. G. Proteomic analyses of the interaction between the plant-growth promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* E681 and *Arabidopsis thaliana*. **Proteomics**, v. 16, n. 1, p. 122-135, 2016.

LABANCA, E. R. G.; ANDRADE, S. A. L.; KURAMAE, E. E.; SILVEIRA, A. P. D. The modulation of sugarcane growth and nutritional profile under aluminum stress is dependent on beneficial endophytic bacteria and plantlet origin. **Applied Soil Ecology**, v. 156, p. 103715, 2020.

LEANDRO, M. R.; RANGEL, P. L.; DOS SANTOS, T. C.; ANDRADE, L. F.; DE SOUZA VESPOLI, L.; RANGEL, A. L. S.; SOUZA, S. A.; BARBOSA, R.R.; PASSAMANI, L. Z.; SILVEIRA, V.; DE SOUZA FILHO, G. A. Colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Herbaspirillum seropedicae* promotes its growth and changes its proteomic profile. **Plant and Soil**, v. 443, n. 1, p. 429-447, 2019.

LI, H. Q.; JIANG, X. W. Inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) improves salt tolerance of maize seedling. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 64, n. 2, p. 235-241, 2017.

LI, X.; SUN, P.; ZHANG, Y.; JIN, C.; GUAN, C. A novel PGPR strain *Kocuria rhizophila* Y1 enhances salt stress tolerance in maize by regulating phytohormone levels, nutrient acquisition, redox potential, ion homeostasis, photosynthetic capacity and stress-responsive genes expression. **Environmental and Experimental Botany**, v. 174, p. 104023, 2020.

LI, Y.; HE, M.; DU, Y.; WANG, X.; ZHANG, H.; DAI, Z.; WAN, J. S. H.; SUN, J.; WANG, C.; DU, D. Indigenous PGPB Inoculant from Qinghai-Tibetan Plateau Soil Confer Drought-Stress Tolerance to Local Grass *Poa annua*. **International Journal of Environmental Research**, v. 16, n. 5, p. 1-11, 2022b

LIU, J.; TANG, L.; GAO, H.; ZHANG, M.; GUO, C. Enhancement of alfalfa yield and quality by plant growth-promoting rhizobacteria under saline-alkali conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 1, p. 281-289, 2018.

LUCAS, J. A.; GARCÍA-CRISTOBAL, J.; BONILLA, A.; RAMOS, B.; GUTIERREZ-MANERO, J. Beneficial rhizobacteria from rice rhizosphere confers high protection against biotic and abiotic stress inducing systemic resistance in rice seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 82, p. 44-53, 2014.

MADLINE, A.; BENIDIRE, L.; BOULARBAH, A. Alleviation of salinity and metal stress using plant growth-promoting rhizobacteria isolated from semiarid Moroccan copper-mine soils. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 47, p. 67185-67202, 2021.

MAHGOUB, H. A.; FOU DA, A.; EID, A. M.; EW AIS, E. E. D.; HASSAN, S. E. D. Biotechnological application of plant growth-promoting endophytic bacteria isolated from halophytic plants to ameliorate salinity tolerance of *Vicia faba* L. **Plant Biotechnology Reports**, v. 15, n. 6, p. 819-843, 2021.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Mapa registra 46 defensivos agrícolas, incluindo sete produtos biológicos.** Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias-2022/mapa-registra-46-defensivos-agricolas-incluindo-sete-produtos-biologicos>. Acesso em: 05 Jan. 2023.

MARKET AND MARKET. **Inoculants Market.** Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/agricultural-inoculants-market152735696.html#:~:text=%5B274%20Pages%20Report%5D%20According%20to,CAGR%20of%208.1%25%20in%20value>. Acesso em: 15 Jun 2023.

MASMOUDI, F.; TOUNSI, S.; DUNLAP, C. A.; TRIGUI, M. Endophytic halotolerant *Bacillus velezensis* FMH2 alleviates salt stress on tomato plants by improving plant growth and altering physiological and antioxidant responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 165, p. 217-227, 2021.

MASMOUDI, F.; TOUNSI, S.; DUNLAP, C. A.; TRIGUI, M. Halotolerant *Bacillus spizizenii* FMH45 promoting growth, physiological, and antioxidant parameters of tomato plants exposed to salt stress. **Plant Cell Reports**, v. 40, n. 7, p. 1199-1213, 2021.

MEINKE, D. W.; CHERRY, J. M.; DEAN, C.; ROUNSLEY, S. D.; KOORNNEEF, M. *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. **Science**, v. 282, n. 5389, p. 662-682, 1998.

MEKUREYAW, M. F.; PANDEY, C.; HENNESSY, R. C.; NICOLAISEN, M. H.; LIU, F., NYBROE, O.; ROITSCH, T. The cytokinin-producing plant beneficial bacterium *Pseudomonas fluorescens* G20-18 primes tomato (*Solanum lycopersicum*) for enhanced drought stress responses. **Journal of Plant Physiology**, v. 270, p. 153629, 2022.

MOHER, D.; SHAMSEER, L.; CLARKE, M.; GHERSI, D.; LIBERATI, A.; PETTICREW, M.; SHEKELLE, P.; STEWART, L.A. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews**, v. 4, n. 1, p. 1, 2015.

MOTAMEDI, M.; ZAHEDI, M.; KARIMMOJENI, H.; MOTAMEDI, H.; MASTINU, A. Effect of rhizosphere bacteria on antioxidant enzymes and some biochemical characteristics of *Medicago sativa* L. subjected to herbicide stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 44, n. 8, p. 1-12, 2022.

NADEEM, S. M.; AHMAD, M.; TUFAIL, M. A.; ASGHAR, H. N.; NAZLI, F.; ZAHIR, Z. A. Appraising the potential of EPS-producing rhizobacteria with ACC-deaminase activity to improve growth and physiology of maize under drought stress. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 463-476, 2020.

NARAYANASAMY, S.; THANGAPPAN, S.; UTHANDI, S. Plant growth-promoting *Bacillus* sp. cahoots moisture stress alleviation in rice genotypes by triggering antioxidant defense system. **Microbiological Research**, v. 239, p. 126518, 2020.

NASERI, S.; AGHA, A. B. A.; SHARIFI, R.; BAHRAMINEJAD, S. Rhizobacteria modify soil biological indices and induce tolerance to osmotic stress in tomato depending on the salinity level and bacteria species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 3, p. 1473-1481, 2022.

NESHAT, M.; ABBASI, A.; HOSSEINZADEH, A.; SARIKHANI, M. R.; DADASHI CHAVAN, D.; RASOULNIA, A. Plant growth promoting bacteria (PGPR) induce antioxidant tolerance against salinity stress through biochemical and physiological mechanisms. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 28, n. 2, p. 347-361, 2022.

NWACHUKWU, B. C.; AYANGBENRO, A. S.; BABALOLA, O. O. Elucidating the rhizosphere associated bacteria for environmental sustainability. **Agriculture**, v. 11, n. 1, p. 75, 2021.

OLIVEIRA, A. M. D.; COSTA, M. R. D.; GRAZZIOTTI, P. H.; ABREU, C. M. D.; BISPO, N. D. S.; ROA, J. P. B.; SILVA, V. M.; MIRANDA, J. M. Brazilian scenario of inoculant production: A look at patents. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 46, 2022.

PANDEY, S.; GUPTA, S. Evaluation of *Pseudomonas* sp. for its multifarious plant growth promoting potential and its ability to alleviate biotic and abiotic stress in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-15, 2020.

PAREDES-PÁLIZ, K.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, R.; DUARTE, B.; CAVIEDES, M. A.; MATEOS-NARANJO, E.; REDONDO-GÓMEZ, S.; CAÇADOR, I.; RODRÍGUEZ-LLORENTE I, D.; PAJUELO, E. Investigating the mechanisms underlying phytoprotection by plant growth-promoting rhizobacteria in *Spartina densiflora* under metal stress. **Plant Biology**, v. 20, n. 3, p. 497-506, 2018.

PETERSON, P. M. **Poaceae (Gramineae)**. Encyclopedia of Life Sci-ences, 2013, 1–4 p.

QIANG, X.; DING, J.; LIN, W.; LI, Q.; XU, C.; ZHENG, Q.; LI, Y. Alleviation of the detrimental effect of water deficit on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth by an indole acetic acid-producing endophytic fungus. **Plant and Soil**, v. 439, n. 1, p. 373-391, 2019.

RAMOS, A. C., MELO, J., DE SOUZA, S. B., BERTOLAZI, A. A., SILVA, R. A., RODRIGUES, W. P., CAMPOSTRINI, E.; OLIVARES, F. L.; EUTRÓPIO, F. J.; CRUZ, C.; DIAS, T. Inoculation with the endophytic bacterium *Herbaspirillum seropedicae* promotes growth, nutrient uptake and photosynthetic efficiency in rice. **Planta**, v. 252, n. 5, p. 1-8, 2020.

RAMPAZZO, P. E.; MARCOS, F. C. C.; CIPRIANO, M. A. P.; MARCHIORI, P. E. R.; FREITAS, S. S.; MACHADO, E. C.; MACHADO E.C.; NASCIMENTO L.C.; BROCCHI, M.; RIBEIRO R.V. Rhizobacteria improve sugarcane growth and

photosynthesis under well-watered conditions. **Annals of Applied Biology**, v. 172, n. 3, p. 309-320, 2018.

REHMAN, F. U.; KALSOOM, M.; ADNAN, M.; TOOR, M.; ZULFIQAR, A. Plant growth promoting rhizobacteria and their mechanisms involved in agricultural crop production: A review. **SunText Review of Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 1-6, 2020.

ROJAS-TAPIAS, D.; MORENO-GALVÁN, A.; PARDO-DÍAZ, S.; OBANDO, M.; RIVERA, D.; BONILLA, R. Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). **Applied Soil Ecology**, v. 61, p. 264-272, 2012.

ROZPADEK, P.; NOSEK, M.; DOMKA, A.; WAŻNY, R.; JĘDRZEJCZYK, R.; TOKARZ, K.; PILARSKA, M.; NIEWIADOMSKA, E.; TURNAU, K. Acclimation of the photosynthetic apparatus and alterations in sugar metabolism in response to inoculation with endophytic fungi. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 4, p. 1408-1423, 2019.

SAHEBANI, N.; GHOLAMREZAEI, N. The biocontrol potential of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 against root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) is dependent on the plant species. **Biological Control**, v. 152, p. 104445, 2021.

SAMANIEGO-GÁMEZ, B. Y.; GARRUÑA, R.; TUN-SUÁREZ, J. M.; 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.

SANSINENEA, E. *Bacillus* spp.: As Plant Growth-Promoting Bacteria. In: SINGH, H., KESWANI, C., REDDY, M., SANSINENEA, E., GARCÍA-ESTRADA, C. (eds) Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms. Springer, p. 225-237, 2019.

SANTOS, A. D. A.; SILVEIRA, J. A. G. D.; BONIFACIO, A.; RODRIGUES, A. C.; FIGUEIREDO, M. D. V. B. Antioxidant response of cowpea co-inoculated with plant growth-promoting bacteria under salt stress. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 513-521, 2018.

SHAHID, M.; SINGH, U. B.; ILYAS, T.; MALVIYA, D.; VISHWAKARMA, S. K.; SHAFI, Z.; YADAV, B.; SINGH, H. V. Bacterial Inoculants for Control of Fungal Diseases in *Solanum lycopersicum* L. (Tomatoes): A Comprehensive Overview. In: SINGH, U.B., SAHU, P.K., SINGH, H.V., SHARMA, P.K., SHARMA, S.K. (eds) **Rhizosphere Microbes**. Springer, 2022, p. 311-339.

SHAMSEER, L.; MOHER, D.; CLARKE, M.; GHERSI, D.; LIBERATI, A.; PETTICREW, M.; SHEKELLE, P.; STEWART, L.A. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. **British Medical Journal**, v. 349, n.1, p. 1-25, 2015.

SHULTANA, R.; ZUAN, A. T. K.; NAHER, U. A.; ISLAM, A. M.; RANA, M. M.; RASHID, M. H.; IRIM I. J.; ISLAM ET AL., RIM, HASAN, A. K. The PGPR

Mechanisms of Salt Stress Adaptation and Plant Growth Promotion. **Agronomy**, v. 12, n. 10, p. 2266, 2022.

SORENG, R. J.; PETERSON, P. M.; ROMASCHENKO, K.; DAVIDSE, G.; ZULOAGA, F. O.; JUDZIEWICZ, E. J.; FILGUEIRA, T. S.; DAVIS, J. I.; MORRONE, O. A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). **Journal of Systematics and Evolution**, v. 53, n. 2, p. 117-137, 2015.

STEFAN, M. A. R. I. U. S.; MUNTEANU, N.; STOLERU, V.; MIHASAN, M. A. R. I. U. S. Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on photosynthesis, antioxidant status and yield of runner bean. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 18, n. 2, p. 8132-8143, 2013.

SURESH, P.; SHANMUGAIAH, V.; RAJAGOPAL, R.; MUTHUSAMY, K.; RAMAMOORTHY, V. *Pseudomonas fluorescens* VSMKU3054 mediated induced systemic resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 119, p. 101836, 2022.

THONGNOK, S.; SIRIPORNADULSIL, W.; SIRIPORNADULSIL, S. Responses to arsenic stress of rice varieties coinoculated with the heavy metal-resistant and rice growth-promoting bacteria *Pseudomonas stutzeri* and *Cupriavidus taiwanensis*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 191, p. 42-54, 2022.

TIEPO, A. N.; HERTEL, M. F.; ROCHA, S. S.; CALZAVARA, A. K.; DE OLIVEIRA, A. L. M.; PIMENTA, J. A.; OLIVEIRA H. C.; BIANCHINIA E.; STOLF-MOREIRA, R. Enhanced drought tolerance in seedlings of Neotropical tree species inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Plant physiology and biochemistry**, v. 130, p. 277-288, 2018.

TIWARI, S.; PRASAD, V.; CHAUHAN, P. S.; LATA, C. *Bacillus amyloliquefaciens* confers tolerance to various abiotic stresses and modulates plant response to phytohormones through osmoprotection and gene expression regulation in rice. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1510, 2017.

UARROTA, V. G.; SAYYED, R. Z.; PEDRESCHI, R. The Role of PGPR-Secondary Metabolites on Plant Photosynthesis. In: SAYYED, R.Z.; UARROTA, V.G. (eds). **Secondary Metabolites and Volatiles of PGPR in Plant-Growth Promotion**. Springer, 2022. p. 45-57.

WANG, B.; CHU, C.; WEI, H.; ZHANG, L.; AHMAD, Z.; WU, S.; XIE, B. Ameliorative effects of silicon fertilizer on soil bacterial community and pakchoi (*Brassica chinensis* L.) grown on soil contaminated with multiple heavy metals. **Environmental Pollution**, v. 267, p. 115411, 2020.

WANG, J.; QU, F.; LIANG, J.; YANG, M.; HU, X. *Bacillus velezensis* SX13 promoted cucumber growth and production by accelerating the absorption of nutrients and increasing plant photosynthetic metabolism. **Scientia Horticulturae**, v. 301, p. 111151, 2022.

WOO, O. G.; KIM, H.; KIM, J. S.; KEUM, H. L.; LEE, K. C.; SUL, W. J.; LEE, J. H. *Bacillus subtilis* strain GOT9 confers enhanced tolerance to drought and salt stresses

in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica campestris*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 359-367, 2020.

WYCKHUYS, K. A.; LU, Y.; ZHOU, W.; COCK, M. J.; NARANJO, S. E.; FERETI, A.; WILLIAMS F. E.; FURLONG, M. J. Ecological pest control fortifies agricultural growth in Asia–Pacific economies. **Nature Ecology & Evolution**, v. 4, n. 11, p. 1522-1530, 2020.

YOUSSEF, S. A.; TAROURA, K. A.; GREASH, A. G. *Serratia proteamaculans* mediated alteration of tomato defense system and growth parameters in response to early blight pathogen *Alternaria solani* infection. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 103, p. 16-22, 2018.

ZAMIOUDIS, C.; KORTELAND, J.; VAN PELT, J. A.; VAN HAMERSVELD, M.; DOMBROWSKI, N.; BAI, Y.; HANSON J.; VERK, M. C. V.; LING, H. Q.; SCHULZE-LEFERT, P.; PIETERSE, C. M. Rhizobacterial volatiles and photosynthesis-related signals coordinate MYB 72 expression in *Arabidopsis* roots during onset of induced systemic resistance and iron-deficiency responses. **The Plant Journal**, v. 84, n. 2, p. 309-322, 2015.

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

ZIA, R.; NAWAZ, M. S.; YOUSAF, S.; AMIN, I.; HAKIM, S.; MIRZA, M. S.; IMRAN, A. Seed inoculation of desert-plant growth-promoting rhizobacteria induce biochemical alterations and develop resistance against water stress in wheat. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 990-1006, 2021.

4 CAPÍTULO II

**ISOLADOS DE *Enterobacter asburiae* e *Pseudomonas putida* NATIVOS DA
AMAZÔNIA PROMOVEM O CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE
Theobroma cacao L. E O ANTAGONISMO *IN VITRO* SOBRE
*Monilophthora perniciosa***

RESUMO

A utilização de bactérias endofíticas é uma estratégia sustentável para o biocontrole de doenças do cacau e promoção de desenvolvimento vegetal. Assim, o objetivo do presente estudo é analisar o potencial de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao* para promoção de crescimento vegetal em plantas jovens de cacau e antagonismo *in vitro* do patógeno *M. pernicioso*. Para isso, ramos de cacau foram coletados em sete municípios do estado do Acre para o isolamento das bactérias de folha e caule. As bactérias foram avaliadas quanto a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização de fosfato (PO_4^{3-}), produção de ácido indol-3-acético (AIA), detecção de enzimas celulase, protease, lipase, amilase e ACC deaminase. Também foi realizado o teste de antagonismo entre bactérias frente ao patógeno *Moniliophthora pernicioso*. Ao término dos ensaios fisiológicos, as plantas de *T. cacao* foram inoculadas com as bactérias selecionadas por 180 dias. Ao final do experimento, caracteres morfoagronômicos e fisiológicos foram avaliados. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e para comparação de médias foi utilizado o teste de agrupamento de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade. Foram obtidos 155 isolados de bactérias endofíticas de *T. cacao*, 55% das bactérias isoladas apresentaram atividade positiva para FBN, seguido por antagonismo ao patógeno (48%), solubilização de PO_4^{3-} (18%), produção de ácido indol-3-acético (18%), atividade proteolítica (10%), ACC deaminase (8%) celulolítica (3%) e amilolítica (1%). A produção de AIA variou entre 21,1 e 93,13 $\mu\text{g/mL}$, com destaque para a bactéria *E. hormaechei* (1.892), que apresentou 93,13 $\mu\text{g/mL}$. Para o teste de antagonismo, nove bactérias (6%) reduziram 50% ou mais do crescimento micelial do patógeno, com destaque para a bactéria 1.783 que reduziu 61,8% do crescimento de *M. pernicioso*. Quanto a promoção de crescimento, foi observada a modulação positiva nas mudas inoculadas para a área foliar, massa fresca da raiz (MFR) e seca total (MST). As bactérias *Enterobacter asburiae* (1.905), *E. asburiae* (1.923), *Bacillus amyloliquefaciens* (1.867) e *E. asburiae* (1.906) aumentaram significativamente a área foliar, com incrementos de até 50,6%. Além disso, os isolados *E. asburiae* (1.923), *E. asburiae* (1.905) e *E. asburiae* (1.906) aumentaram a MFR e MST, com aumentos de 44,4% e 43,7%. Também foi verificada modulação positiva da inoculação na quantidade de pigmentos foliares, para os quais *Pseudomonas putida* (1.845), *E. asburiae* (1.905), isolado 1.850 e isolado 1.848 aumentaram os teores de clorofilas *a* e *b*, carotenóides e clorofila total, quando comparado ao controle. Portanto, bactérias endofíticas isoladas de *T. cacao* demonstram potencial de crescimento vegetal e antagonismo, e são promissoras para o desenvolvimento de novas tecnologias e integração aos sistemas de produção sustentável de cacau na Amazônia.

Palavras-chaves: Fixação biológica de nitrogênio (FBN); ácido indol-3-acético (AIA); *Enterobacter*, *Pseudomonas*.

ABSTRACT

The use of endophytic bacteria is a sustainable strategy for biocontrol of cocoa diseases and promotion of plant development. Thus, the objective of the present study is to analyze the potential of endophytic bacteria from *Theobroma cacao* to promote plant growth in young cocoa plants and in vitro antagonism of the pathogen *Moniliophthora perniciosa*. For this, cocoa tree branches were collected in seven municipalities in the state of Acre for the isolation of leaf and stem bacteria. The bacteria were evaluated for their capacity for biological nitrogen fixation (FBN), phosphate solubilization (PO_4^{3-}), production of indole-3-acetic acid (IAA), detection of cellulase, protease, lipase, amylase and ACC deaminase enzymes. The antagonism test between bacteria against the pathogen *Moniliophthora perniciosa* was also carried out. At the end of the physiological tests, the *T. cacao* plants were inoculated with the selected bacteria for 180 days. At the end of the experiment, morphoagronomic and physiological characters were evaluated. The data obtained were subjected to analysis of variance and to compare means, the Scott Knott mean grouping test was used at 5% probability. 155 isolates of endophytic bacteria from *T. cacao* were obtained. 55% of the isolated bacteria showed positive activity for FBN, followed by antagonism to the pathogen (48%), solubilization of PO_4^{3-} (18%), production of indole-3-acetic acid (18%), proteolytic activity (10%), ACC deaminase (8%), cellulolytic (3%) and amylolytic (1%). IAA production varied between 21.1 and 93.13 $\mu\text{g/mL}$, with emphasis on the bacterium *E. hormaechei* (1,892), which presented 93.13 $\mu\text{g/mL}$. For the antagonism test, nine bacteria (6%) reduced 50% or more of the pathogen's mycelial growth, with emphasis on bacteria 1,783, which reduced 61.8% of the growth of *M. perniciosa*. Regarding growth promotion, positive modulation was observed in the inoculated seedlings for leaf area, root freshness (MFR) and total drought (MST). The bacteria *Enterobacter asburiae* (1,905), *E. asburiae* (1,923), *Bacillus amyloliquefaciens* (1,867) and *E. asburiae* (1,906) significantly increased leaf area, with increases of up to 50.6%. Furthermore, strains *E. asburiae* (1,923), *E. asburiae* (1,905) and *E. asburiae* (1,906) increased MFR and MST, with increases of 44.4% and 43.7%. A positive modulation of the inoculation in the amount of leaf pigments was also verified, for which *Pseudomonas putida* (1,845), *E. asburiae* (1,905), isolate 1,850 and isolate 1,848 increased the levels of chlorophylls a and b, carotenoids and total chlorophyll, when compared to the control. Therefore, endophytic bacteria isolated from *T. cacao* demonstrate potential for plant growth and antagonism and are promising for the development of new technologies and integration into sustainable cocoa production systems in the Amazon.

Keywords: BPCV; Biological nitrogen fixation (BNF); Indole-3-acetic acid (IAA); *Enterobacter*; *Pseudomonas*.

4.1 INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é conhecido mundialmente por ser base para produção de chocolate. Os maiores produtores são os países da África Ocidental, como Costa do Marfim, Gana, Nigéria e Camarões, e da América do Sul, Equador, Colômbia e Brasil. Ao todo, esses países representam 90% da produção de cacau, grande parte proveniente de pequenos agricultores (ICCO, 2020).

No Brasil, a produção de cacau na Amazônia é prioritariamente em Sistema Agroflorestal, em propriedades de agricultores familiares, com 70% dos cultivos realizados em áreas degradadas, antes ocupadas por pastagens (EMBRAPA, 2022; VENTURIERI et al., 2022). Levando em consideração que o fruto tem proporcionado rentabilidade aos pequenos agricultores, bem como diversificação da renda por meio dos consórcios florestais, e auxiliado na redução de áreas degradadas, trata-se de uma cadeia produtiva altamente sustentável e bem-vista internacionalmente. Logo, gerar tecnologias sustentáveis que impulsionem a cacauicultura é de grande importância.

Entretanto, os plantios de cacau estão ameaçados por patógenos de importância socioeconômica. Até 1970, o Brasil era segundo maior produtor mundial de cacau, porém, pragas quarentenárias assolaram a espécie e devastaram milhares de hectares (EVANS, 2016). O fungo causador da vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) é um dos principais patógenos da espécie. Os esporos fúngicos colonizam tecidos meristemáticos, e ocasionam danos em regiões apicais, com hipertrofia e hiperplasia da semente, e por fim necrose de tecidos (TIRADO-GALLEGO et al., 2016).

A medida utilizada para contornar o problema ainda se trata da utilização do controle químico. Todavia, está consolidado o fato que o uso de defensivos agrícolas em larga escala provoca distúrbios ambientais, com a contaminação do solo, animais e dos seres humanos (NASCIMENTO; MELNYK, 2016). Devido a isto, o manejo integrado de doenças (MID) é uma ferramenta ideal para superar desafios fitossanitários, visto que o princípio básico é a união de técnicas mais sustentáveis para o controle de doenças em plantas (PANDEY et al., 2016).

Nesse contexto, o uso de microrganismos endofíticos se enquadra como promissor a ser integrado ao desenvolvimento da cacauicultura, visto que são importantes produtores de substâncias biotivas, resultado da interação

endófito/planta, que estão associados a proteção da planta em campo contra fitopatógenos (KUMAR; KAUSHIK, 2012). As bactérias endofíticas são importantes produtoras de hormônios vegetais que tem fundamental importância no desenvolvimento inicial das plântulas, aumentando sua sobrevivência em estágios iniciais (AFZAL et al., 2019). Neste sentido, bactérias promotoras de crescimento e desenvolvimento vegetal (BPCV) podem ser um interessante meio tecnológico e/ou conservacionista. Isto porque a presença dos microrganismos endofíticos é um dos principais fatores que influenciam na adaptação da planta ao ambiente (AZEVEDO, 1998).

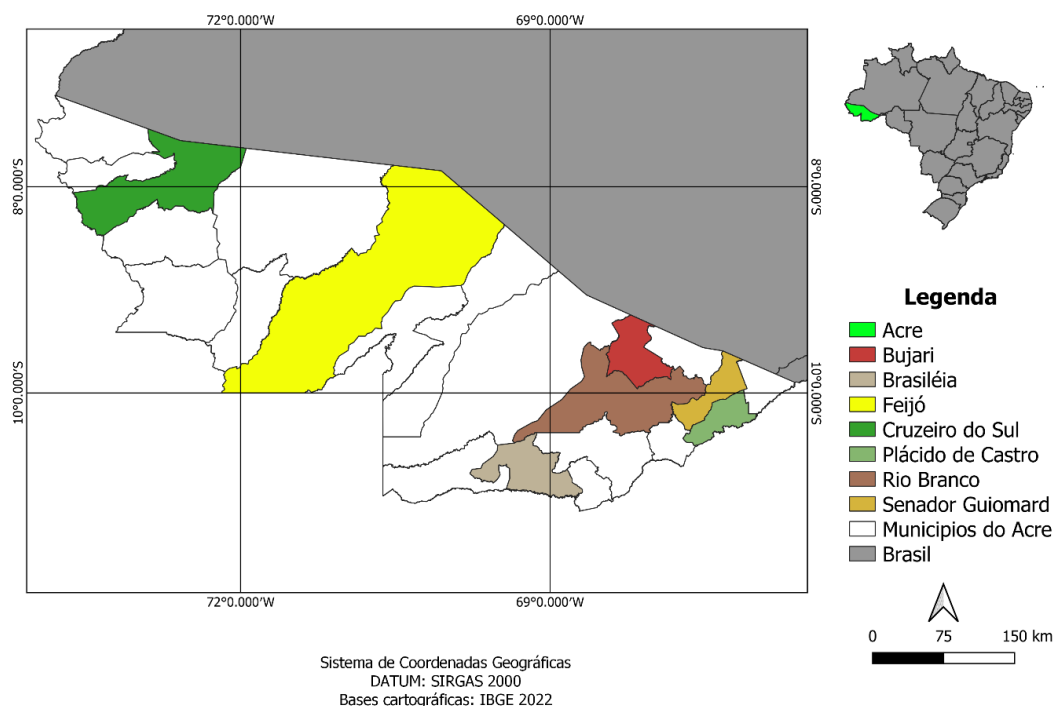
No setor agrícola existem vários estudos sobre bactérias endofíticas que auxiliam o crescimento vegetal. O uso de fitobactérias como promotoras de produção do fitohormônio ácido indol-3-acético (AIA), por meio da produção de triptofano, produção de amônio prontamente disponível para a planta e ação de nitrogenase, há muito é estudado, a ponto deste tipo de tecnologia ser uma das maiores alternativas para a maximização do uso do solo (BERG, 2009; BHATTACHARYYA; JHA, 2012). Neste sentido, bactérias endofíticas são uma importante ferramenta no desenvolvimento de novas tecnologias no setor agrícola, para a viabilização de produção de mudas com maior qualidade biológica no que diz respeito ao desenvolvimento vegetal e resistência a fitopatógenos. Dessa forma, este trabalho tem por objetivo analisar o potencial de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao* para promoção de crescimento vegetal em plantas jovens de cacauero e antagonismo *in vitro* do patógeno *M. perniciosa*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Isolamento de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao* da Amazônia

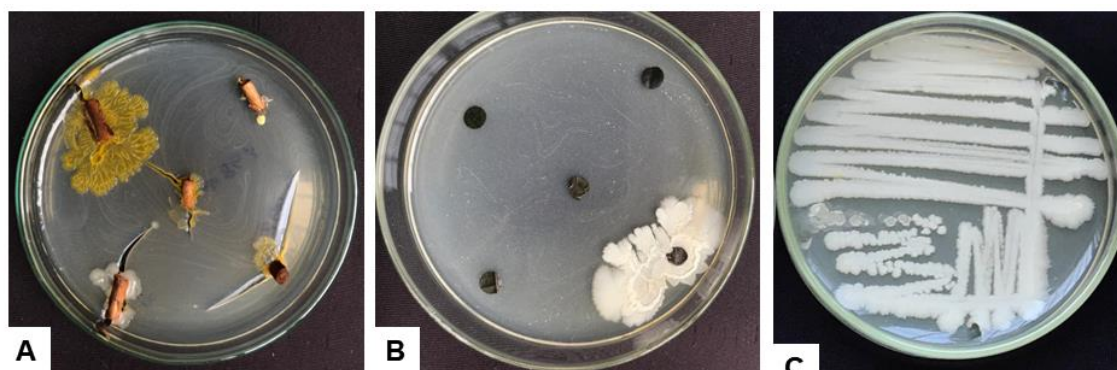
Para o isolamento das bactérias endofíticas, ramos de cacaueros foram coletados em sete municípios do Acre (Figura 1), acondicionados em sacos plásticos e transportados ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Acre.

Figura 1. Municípios de coleta de *Theobroma cacao* para isolamento de bactérias endofíticas, Acre, Brasil.



Inicialmente, os ramos foram lavados com água corrente da torneira, e a desinfestação realizada pela imersão em álcool 70% (v/v) por 1 minuto, seguido de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo, por 3 minutos, álcool 70% por 30 segundos, e dois enxágues com água esterilizada, um minuto cada lavagem. Em condição de fluxo laminar vertical, as folhas e caules desinfestados foram cortados em fragmentos de 5 mm de diâmetro, e inoculados em meio de cultura Triptona de Soja (TSB) acrescido do antifúngico Cercobin 700 (50 µg/mL). Os fragmentos de cada órgão da planta, folha e caule, foram depositados em meio de cultura e incubadas à 28 °C por 30 dias. Diariamente os fragmentos foram analisados para verificação de crescimento bacteriano (Figura 2A e 2B) (AZEVEDO et al., 1998; ARAÚJO et al., 2010).

Figura 2. Isolamento e caracterização morfológica de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao*. (A) Isolamento de bactérias do caule. (B) Isolamento de bactérias da folha. (C) Caracterização macro morfológica das colônias.



As colônias morfológicamente distintas foram purificadas pelo método de estrias por esgotamento em meio de cultura TSB a 10% (Figura 2C). Em seguida, as linhagens bacterianas purificadas foram preservadas em microtubos com 800 µl de meio TSB líquido suplementado com 200 µl de glicerol e armazenadas em freezer, para manutenção de suas características genéticas (ARAÚJO et al., 2010).

4.2.2 Caracterização morfológica das bactérias endofíticas isoladas

A análise macromorfológica das bactérias isoladas considerou o tamanho (puntiforme menor que 0,5 mm), forma (circular, irregular ou rizóide), bordas (lisa, lobada, denteada ou ondulada), superfície (lisa, rugosa, pregueada, raiada), consistência (cremosa, viscosa, granulosa ou seca), transparência (opaca, translúcida ou transparente), coloração (amarelo ouro, amarelo citrina, amarelo claro, vermelho, rosada, branca, castanha ou alaranjada) e brilho (fosco ou brilhante) (ARAÚJO et al., 2010).

Para a micromorfologia foi utilizado o método de coloração de Gram, no qual uma amostra de colônias bacterianas, armazenadas em placas de Petri contendo meio TSB 10%, foi coletada com o auxílio da alça bacteriológica estéril, e em seguida, misturada a uma gota de solução salina em uma lâmina de vidro e submetido as etapas da coloração de Gram. Após a coloração, a lâmina foi seca e submetida à observação sob microscópio para observação da forma, arranjo e classificação de Gram (ARAÚJO et al., 2010).

4.2.3 Análises de caracteres fisiológicos de promoção de crescimento vegetal direto por bactérias endofíticas

Teste de Fixação Biológica de Nitrogênio

A detecção de fixação biológica de nitrogênio (FBN) foi determinada por meio da formação de película de crescimento em tubos de ensaio contendo meio de Nbf semi-sólido, como descrito por Boddey et al., 1995), composto de ácido málico (5,0 g/L), KH_2PO_4 (0,5 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2 g/L), NaCl (0,1 g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,002 g/L), 2 mL de solução de micronutrientes (0,04 g $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,2 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,4 g H_3BO_3 , $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1 g/L) e $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,175 g/L), acrescido de 2 mL/L de solução de bromotimol (1 g de azul de bromotimol, 50 mL de etanol e 50 mL de água destilada), 4 mL/L de FeEDTA (4M), 1 mL/L de solução de vitaminas (0,1 g de biotina e 0,02 g de piridoxina complementados com 1000 mL de água destilada), 4,5 g KOH, 1,8 g de ágar, completados com 1000 mL de água destilada. O pH deste meio foi ajustado a 6,8 (ARAÚJO et al., 2010).

Teste de solubilização de fosfato

Os isolados com atividade positiva para FBN foram submetidos ao teste de solubilização de fosfato. A capacidade de solubilização de fosfato pelos isolados bacterianos foi analisada pela presença de halo translúcido, após o cultivo das bactérias no meio de fosfato, composto por 10,0 g de glicose, 5,0 g NH_4Cl , 1,0 g NaCl, 1,0 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,8 g CaHPO_4 e 15 g de ágar, complementados com 1000 mL de água destilada, a 28 ° C por 72 horas (VERMA et al., 2001). O teste foi realizado em triplicata.

Teste de produção do ácido indol-3-acético (AIA)

Isolados com atividades positivas para FBN e solubilização de fosfato, foram submetidas ao teste de produção de AIA, realizado pelo método de Bric et al. (1991). Primeiramente, foi realizada a inoculação bacteriana em meio de cultivo TSB, suplementado com 10% de L-triptofano (5 mM) e incubadas sob agitação, no escuro, a 28 °C por período de 72 horas. Decorrido o período, as culturas foram centrifugadas

por 5 minutos a 12.000 rpm. Deste processo, 900 µL do sobrenadante foi misturado com 400 µL do reagente de Salkoviski, sendo esta solução incubada à temperatura e luminosidade ambiente por 30 minutos. Posteriormente, foi processada a análise do AIA em triplicata, por meio do uso de técnica de espectrofotometria, com comprimento de onda de 530 nm (HARTMANN et al., 1983).

Foi preparada curva padrão com concentrações de AIA comercial (padrão) nas concentrações de 100, 80, 40, 10 e 0 µg/mL, que foi utilizada para o cálculo quantitativo de AIA em cada amostra. Em seguida os dados foram tabulados em um gráfico com as concentrações do AIA padrão no eixo x (µg/ml) e o valor médio de absorbância no eixo Y. Com base nesses valores foi gerado a equação da reta, bem como o valor de R². Posteriormente os valores de absorbância de cada amostra foram calculados com base na equação obtida, em que x é o valor da absorbância encontrada a 530 nm e y a concentração de AIA em µg/mL (EMBRAPA, 2017).

Teste de produção de 1-aminociclopropano-1-carboxylato (ACC) deaminase

Os isolados com atividade positiva para FBN, solubilização de fosfato e produção de AIA foram analisados pelo teste de detecção da atividade de ACC deaminase. Foi utilizado o método de Glick et al. (1995), que se baseia no preceito que alguns isolados possam crescer em meio onde a única fonte de nitrogênio seja o ACC devido a presença da enzima ACC deaminase. Primeiramente, os isolados foram cultivados em meio TSB à 28 °C por 24h. Posteriormente, foi preparado meio sólido ACC e adicionado o equivalente a 5 g de ACC (comercial) em 1L de meio mínimo e complementado com 15 g de ágar. Também foi preparado o meio na ausência de ACC sem nenhuma fonte de nitrogênio. Após o preparo dos meios os isolados foram semeados em placas e incubados à 28 °C por 48h. Os isolados que cresceram somente no meio com ACC foram considerados capazes de utilizar o ACC como fonte de N e, portanto, produtores de ACC deaminase.

4.2.4 Análises de caracteres fisiológicos de promoção de crescimento vegetal indireto por bactérias endofíticas

A avaliação do potencial de promoção de crescimento vegetal indireto foi composta pela detecção de enzimas hidrolíticas e teste de antagonismo frente ao

patógeno *M. pernicioso*. Ambos os ensaios foram realizados para todos os isolados de *T. cacao*. As enzimas analisadas foram celulase, amilase, protease e lipase. Para a realização destas etapas as bactérias foram previamente cultivadas em meio TSB por 48 h à 28°C e posteriormente foram inoculados em meios específicos para cada enzima avaliada.

Atividade celulolítica

Para o teste de degradação de celulose, as bactérias foram inoculadas em placas de Petri contendo o meio sólido de ágar carboximetilcelulose (CMC) (carboximetilcelulose 10 g; ágar 15 g para 1L), e incubadas a 28 °C por sete dias. Após incubação, as placas foram coradas com 10 mL do corante iodo de Gram por 10 min para a revelação do halo de degradação de CMC (MEDDEB-MOUELHI et al., 2014).

Atividade amilolítica

Para o teste de degradação de amido, as bactérias foram semeadas em meio sólido composto de 15 g ágar, 2,7 g extrato de carne, 4,5 g peptona com 1% amido para 1 L de água destilada. As placas foram incubadas à 28 °C por sete dias e posteriormente para análise foi utilizado a solução reveladora de iodo de Gram. A atividade foi considerada positiva com a formação do halo de degradação translúcido ao redor da colônia (DINGLE et al., 1953).

Atividade lipolítica

Para o teste de degradação de lipídeos, as bactérias foram inoculadas em meio mínimo (0,19 g NaNO₃, 0,59 g KH₂PO₄, 0,25 g MgSO₄.7H₂O, 0,25 g KCl, 0,005g FeSO₄.7H₂O, 5 g glicose e 15 g ágar para 1L), suplementado com 2% de Tween 80 ajustado o pH em 6,5. As placas foram incubadas à 28 °C por sete dias e posteriormente mais 7 dias na geladeira (SIERRA, 1957). Após a incubação, a reação enzimática positiva para lipase foi a identificação da formação de cristais de sais de cálcio (HANKIN; ANAGNOSTAKIS, 1975).

Atividade proteolítica

Para o teste de degradação de proteína, as bactérias foram semeadas em meio mínimo (0,19 g NaNO₃, 0,59 g KH₂PO₄, 0,25 g MgSO₄.7 H₂O, 0,25 g KCl, 0,005g FeSO₄.7 H₂O, 5 g glicose e 15 g ágar para 1L), suplementado com 2% de leite desnatado, ajustado o pH em 6,5. As placas foram incubadas à 28 °C por sete dias. Os resultados das reações enzimáticas positivas foram identificados pela formação de um halo de degradação translúcido ao redor da colônia, não sendo necessário solução reveladora (DINGLE et al., 1953).

Ensaio de antagonismo frente ao patógeno Moniliophthora perniciosa

As bactérias endofíticas isoladas foram utilizadas para o teste de antagonismo frente ao patógeno *M. perniciosa*. A colônia do patógeno *M. perniciosa* foi obtida da Coleção de Microrganismos do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Acre. Para a realização do teste de antagonismo utilizou-se o teste de paridade *in vitro*. Discos fúngicos de 6 mm do patógeno *M. perniciosa*, previamente crescido em meio de cultura BDA por 7 dias, foram inoculados na região central da placa de Petri de 90mm de diâmetro, contendo meio BDA. Nas extremidades da placa foi inoculado a bactéria endofítica, por meio de estrias múltiplas para espalhamento do material. O teste foi realizado em triplicata e incubado a 25 °C por 7 dias. Após este período o potencial de antagonismo foi avaliado mediante a medição em milímetros do crescimento do patógeno *M. perniciosa* em comparação ao grupo controle (ausência de bactéria) (ROMEIRO et al., 2007).

4.2.5 Caracterização molecular das bactérias endofíticas com indicativo de promoção de crescimento vegetal

As bactérias endofíticas com os melhores resultados para as atividades de promoção de crescimento vegetal direto e indireto, foram submetidas à extração de ácido desoxirribonucleico (DNA) utilizando o kit comercial Bacterial Genomic DNA isolation kit-50r. Os produtos obtidos na extração foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1%, para confirmação da extração do DNA. Para amplificação

foi utilizada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com os primers 27 F (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) e 1378 R (CGG TGT GTA CAA GGC CCG GGA AGG) (HEUER et al., 1997), específicos para a região bacteriana universal 16S rRNA. A amplificação foi realizada em um termociclador com a seguinte programação: 94 °C por 2 min, 95 °C por 40 s, 60 °C por 40 s, 72 °C por 1 min e seguido por uma etapa de extensão de 7 min à 72 °C, totalizando 35 ciclos. Posteriormente, os produtos de PCR foram purificados seguindo o protocolo do kit comercial Easy Pure PCR Purification Kit. Após a etapa de purificação, as amostras foram enviadas a empresa ACTgene Análises Moleculares Ltda. para realização do sequenciamento.

As sequências obtidas foram analisadas pelo BLASTn contra a base de dados National Center for Biotechnology Information (NCBI) website – <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> para conferência dos gêneros e identificação das espécies de bactérias em estudo.

4.2.6 Teste de promoção de crescimento vegetal em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em casa de vegetação sob delineamento inteiramente casualizado (DIC). Para a inoculação das plântulas, sementes de *T. cacao* nativo foram utilizadas, onde primeiramente realizou-se a desinfestação superficial das sementes pela imersão em álcool 70% por 1 minuto, em hipoclorito de sódio a 2,5% por 3 minutos, em álcool 70% por 30 segundos, seguido de lavagem em água esterilizada por 1 minuto (ARAÚJO et al., 2010). Posteriormente, as sementes foram secas e semeadas em bandejas contendo substrato estéril formado por serragem, areia e terra vegetal na proporção 1:1:1 (SENAR, 2018). Após 30 dias, as mudas sem má formação foram submetidas ao processo de inoculação. Esta etapa consistiu em mergulhar o sistema radicular das plântulas em 50 mL de inóculo bacteriano na concentração de 10^8 UFC/mL ajustados conforme escala Mc Farland. O inóculo é composto por água destilada autoclavada com adição da colônia bacteriana. Após a inoculação, as plantulas foram transplantadas para vasos de 4 litros, contendo areia e terra vegetal na proporção 1:1. A cada 30 dias as plantas eram novamente tratadas com 50 mL de inóculo bacteriano adicionado aos substratos de cada tratamento.

O experimento consistiu em avaliar 12 isoaldos bacterianas com atividade positiva para pelo menos quatro características fisiológicas de promoção de crescimento direto e indireto, mais o controle (água), totalizando 13 tratamentos. Após 180 dias as mudas foram avaliadas, sendo analisadas as seguintes variáveis morfoagronômicas:

- a. Altura (cm) - utilizado uma fita métrica para medição desta variável, que consistiu da mensuração em centímetros do colo até o meristema apical da planta;
- b. Área foliar (cm²) - utilizada uma fita métrica para medição desta variável. A área foliar foi obtida pelo produto oriundo da multiplicação de outras duas variáveis das folhas, largura (cm) e comprimento (cm). Foram mensuradas somente as folhas da região mediana da planta;
- c. Comprimento da raiz (cm) - utilizada uma fita métrica para medição desta variável. Para isso a mensuração foi iniciada na base do colo até o meristema apical da raiz;
- d. Massa fresca da parte aérea (g) - Imediatamente após a finalização do experimento, a parte aérea das plantas foram pesadas com auxílio de uma balança semi analítica para aferição das massas frescas;
- e. Massa fresca da raiz (g) - Imediatamente após a finalização do experimento, a raiz das plantas foram pesadas com auxílio de uma balança semi analítica para aferição as massas frescas;
- f. Massa seca da parte aérea (g) - A parte aérea das plantas foram submetidas a secagem. Para isso foi utilizada uma estufa com temperatura ajustada à 60° C por um período total de 72h. Após a secagem, as amostras foram pesadas com com auxílio de uma balança semi analítica para aferição das massas secas;
- g. Massa seca da raiz (g) - A raiz das plantas foram submetidas a secagem. Para isso as amostras foram secas em estufa ajustada à temperatura à 60° C por um período total de 72 h. Após a secagem, as amostras foram pesadas com com auxílio de uma balança semi analítica para aferição das massas secas;
- h. Massa seca total (g) - Obtida por mensuração indireta, pelo somatório das massas secas tanto da parte aérea quanto raiz;
- i. Diâmetro do colo (mm) - Obtida pela mensuração direta com auxílio de um paquímetro digital.

- j. Índice de qualidade de Dickson - IQD (DICKSON et al., 1960): A qualidade das mudas foram evidenciadas pelo cálculo do índice IQD. Esta variável foi obtida de forma indireta, pela seguinte equação:

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

Onde:

IQD = Índice de qualidade de Dickson - IQD

MST = Massa seca total

ALT = Altura

DC = Diâmetro do colo

MSPA = Massa seca da parte aérea

MSR = Massa seca da raiz

4.2.7 Conteúdos de pigmentos fotossintéticos e carotenóides

A quantificação de clorofilas e carotenóides foi realizada a partir de 50 mg de folhas obtidas da porção mediana da planta. Foram utilizadas três repetições de cada tratamento para quantificação. As amostras foram fragmentadas em tubos de ensaio e em seguida imersas em 7 mL de acetona 80%. Os tubos foram armazenados na temperatura de 4 °C durante 48 horas para extração de pigmentos. Após este período, as absorbâncias foram coletadas por meio de um espectrofotômetro utilizando três comprimentos de onda 663 nm, 647 nm e 470 nm. Para quantificação dos pigmentos, os valores de absorbância obtidos foram substituídos nas equações de Lichtenthaler e Wellburn (1983). A quantidade de pigmentos é obtido em µg/mL e expressos em mg/mL:

1. Clorofila total = (17,3 * A₆₄₇ + 7,18 * A₆₆₃);
2. Clorofila a = (12,21 * A₆₆₃ - 2,81 * A₆₄₇);
3. Clorofila b = (20,13 * A₆₄₇ - 5,03 * A₆₆₃);
4. Carotenóides = (1000 * A₄₇₀ - 3,27 * [clorofila a] - 104 * [clorofila b] / 229)

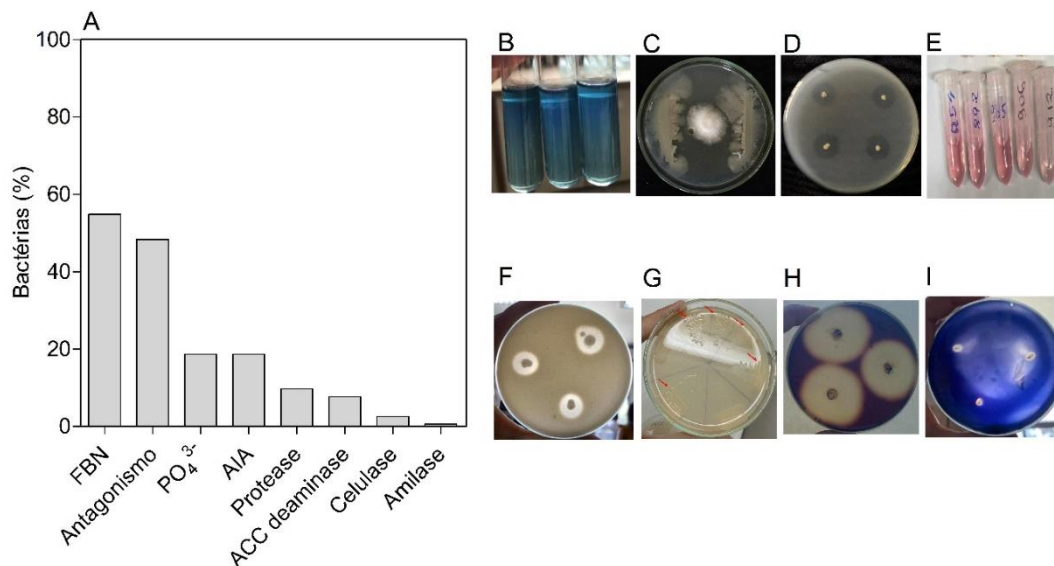
4.2.8 Análise de dados

Os dados obtidos a partir dos testes *in vitro* e casa de vegetação foram submetidos ao teste de normalidade dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965) e homogeneidade de variâncias (BARTLETT, 1937). Posteriormente, foram submetidos à análise de variância (SNEDECOR; COCHRAN, 1948). Para comparação de médias foi utilizado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. Para análise estatística, construção dos gráficos utilizou-se os softwares SISVAR 5.6, GraphPad Prism 9.5 e RStudio. Para confecção de mapa utilizou-se o programa QGIS.

4.3 RESULTADOS

Foram obtidos 155 isolados de bactérias endofíticas de *T. cacao*. Destas, 123 isolados apresentaram atividades de promoção de crescimento vegetal direto e indireto. 55% das bactérias isoladas apresentaram atividade positiva para fixação biológica de nitrogênio, seguido por antagonismo ao patógeno (48%), solubilização de PO_4^{3-} (18%), produção de ácido indol-3-acético (18%), atividades proteolítica (10%), ACC deaminase (8%) celulolítica (3%) e amilolítica (1%) (Figura 3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 3F, 3G, 3H e 3I).

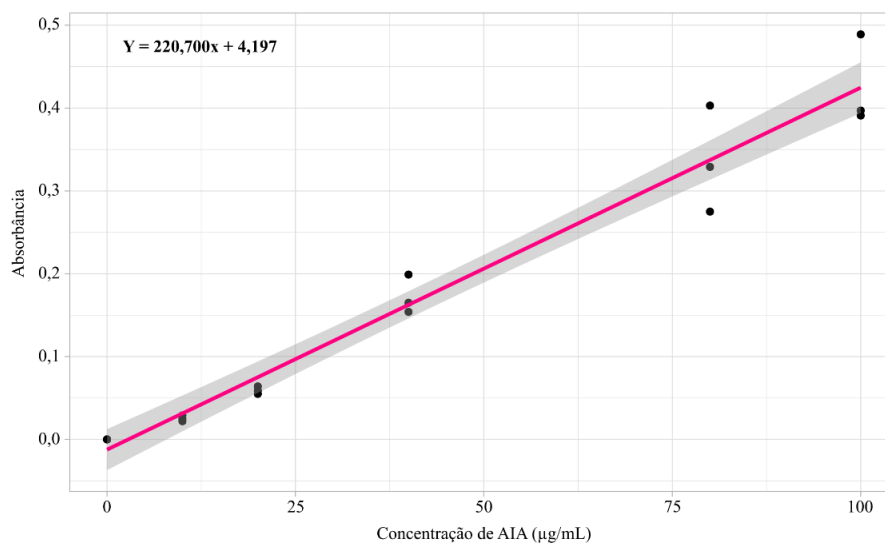
Figura 3. Atividades fisiológicas produzidas por bactérias endofíticas de *Theobroma cacao*. (A) Porcentagem de bactérias que apresentaram caracteres fisiológicos de promoção de crescimento vegetal direto e indireto. (B) Fixação biológica de nitrogênio. (C) Teste de antagonismo. (D) Solubilização de fosfato. (E) Produção de ácido indol-3-acético. (F) atividade proteolítica. (G) atividade de 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminase. (H) atividade celulolítica. (I) atividade amilolítica.



Notas: B – formação de película no meio Nbf indicando FBN; C – bactéria reduzindo o crescimento micelial do patógeno. D – bactéria com indicativo de solubilização de fosfato devido a formação de halo translúcido. E – indicativo da produção de AIA pela mudança de coloração do meio. F, H e I – formação de halo translúcido com indicativo para produção das enzimas protease, celulase e amilase, respectivamente. G crescimento bacteriano no meio ACC com indicativo de produção de ACC deaminase.

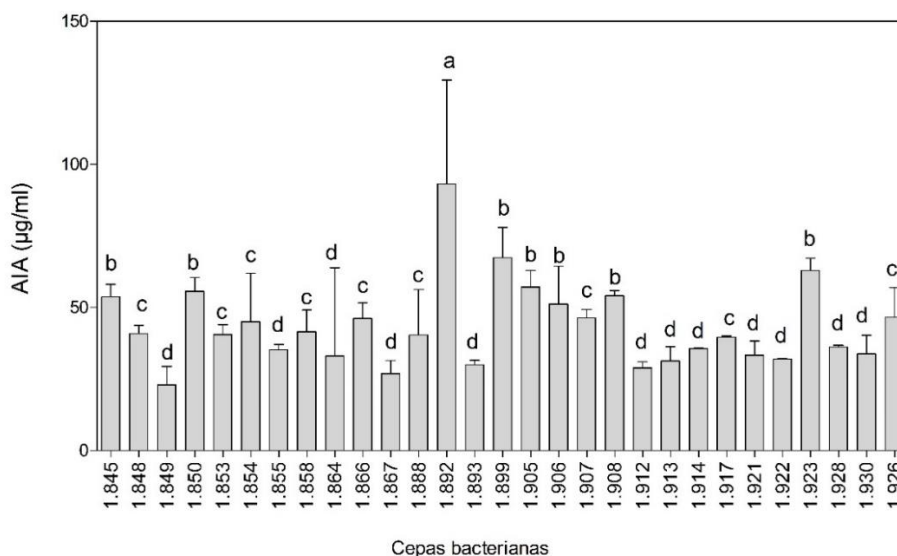
A análise quantitativa foi obtida por meio da comparação com a curva padrão de AIA determinada ($R^2 = 0,96$). A equação gerada possibilitou o cálculo da quantidade de AIA produzido a partir das absorbâncias coletadas (Figura 4). O teste fisiológico para detecção da produção de ácido indol-3-acético revelou 29 bactérias produtoras deste hormônio, variando entre 21,1 a 93,13 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 5). *E. hormaechei* (1.892) sintetizou a maior quantidade de AIA, com 93,13 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 5).

Figura 4. Curva padrão de AIA usada para determinar a produção ($\mu\text{g/mL}$) deste fitormônio por bactérias endofíticas.



De 155 bactérias isoladas, 75 apresentaram algum grau de inibição frente ao patógeno *M. pernicioso*, representando 48% dos isolados. Entretanto 9 isolados (6%) se destacaram reduzindo 50% ou mais do crescimento micelial do patógeno. As bactérias endofíticas de destaque foram 1.783, 1.821, 1.843, 1.816, 1.791, 1.813, 1.807 e 1.782, 1.873 (Tabela 1).

Figura 5. Produção de ácido indol-3-acético ($\mu\text{g/mL}$) por bactérias endofíticas de *Theobroma cacao*.



Nota - Médias seguidas por letras iguais não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Scott Knott.

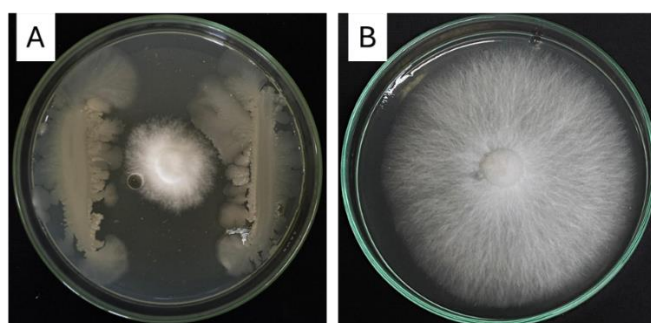
Tabela 1. Crescimento micelial e percentual de inibição do patógeno no teste de antagonismo *in vitro* de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao* contra *Moniliophthora perniciosa*.

Isolados	Crescimento micelial (mm)	Inibição (%)
1.783	14,5 a	61,8 a
1.821	14,5 a	61,8 a
1.843	15,0 a	60,5 a
1.816	15,5 a	59,2 a
1.813	16,5 a	56,6 a
1.791	16,5 a	56,6 a
1.807	17,0 a	55,3 a
1.782	17,5 a	53,9 a
1.873	19 a	50,0 a
Controle	39 b	-
Média Geral (%)	18,5	51,5
CV (%)	11,9	11,7

Nota - Médias seguidas por letras iguais não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Scott Knott.

A bactéria 1.783 apresentou maior atividade antagônica com redução de 61,8% do crescimento de *M. perniciosa* em comparação com o crescimento do fungo na ausência da bactéria (Figura 6).

Figura 6. Teste de antagonismo bactérias endofíticas de *Theobroma cacao* e *Moniliophthora perniciosa*. (A) Crescimento micelial do patógeno frente as bactérias. (A) Placa teste do patógeno (região central) frente a bactéria 1.783 (bordas). (B) Placa controle.



Considerando que 123 isolados apresentaram atividades biológicas de promoção de crescimento vegetal, foram reunidas os isolados com maior número de atividades (Tabela 2). As bactérias selecionadas foram as que apresentaram quatro ou mais caracteres de promoção de crescimento vegetal direto e indireto. Dessa forma os isolados 1.845, 1.848, 1.850, 1.854, 1.867, 1.892, 1.899, 1.905, 1.906, 1.908, 1.912 e 1.923 foram selecionadas para o teste em casa de vegetação (Tabela 2).

Tabela 2. Múltiplas características de promoção de crescimento vegetal exibidas por bactérias endofíticas de *Theobroma cacao*.

Bactéria	Promoção de crescimento direto				Promoção de crescimento indireto			
	FBN	PO ₄ ³⁻	AIA (µ/mL)	ACC deaminase	Inibição patógeno (%)	Cel	Prot	Am
1.782	-	-	-	-	53,9 a	-	-	-
1.783	-	-	-	-	61,8 a	-	+	-
1.791	-	-	-	-	56,6 a	+	-	-
1.813	-	-	-	-	56,6 a	-	-	-
1.816	-	-	-	-	59,2 a	-	+	-
1.807	-	-	-	-	55,3 a	-	-	-
1.821	-	-	-	-	61,8 a	-	+	-
1.843	-	-	-	-	60,5	-	-	-
1.845	+	+	53,7 b	+	-	-	+	-
1.848	+	+	40,8 c	-	-	-	+	-
1.849	+	+	22,1 d	-	-	-	-	-
1.850	+	+	55,6 b	+	-	-	+	-
1.853	+	+	40,5 c	-	-	-	-	-
1.854	+	+	44,9 c	+	-	-	+	-
1.855	+	+	35,1 d	-	-	-	-	-
1.858	+	+	41,5 c	-	-	-	-	-
1.864	+	+	32,9 d	-	-	-	-	-
1.866	+	+	46,1 c	-	-	-	-	-
1.867	+	+	26,8 d	-	-	-	+	-
1.873	-	-	-	-	50 a	-	-	-
1.888	+	+	40,3 c	-	-	-	-	-
1.892	+	+	93,1 a	+	-	-	+	-
1.893	+	+	30,3 d	-	-	-	-	-
1.899	+	+	61,8 b	+	-	+	+	-
1.905	+	+	57,1 b	+	-	+	+	+
1.906	+	+	51,2 b	+	-	-	+	-
1.907	+	+	46,3 c	-	-	-	-	-
1.908	+	+	54,2 b	+	-	-	+	-
1.912	+	+	28,8 d	+	-	+	+	-
1.913	+	+	31,2 d	-	-	-	-	-
1.914	+	+	35,6 d	-	-	-	-	-
1.917	+	+	39,6 d	-	-	-	-	-
1.921	+	+	33,3 d	-	-	-	-	-
1.922	+	+	31,9 d	-	-	-	-	-
1.923	+	+	62,3 b	+	-	-	+	-
1.926	+	+	46,6 c	-	-	-	-	-
1.928	+	+	36,1 d	-	-	-	-	-
1.930	+	+	33,7 d	-	-	-	-	-

Notas: (+) Atividade positiva; (-) Atividade negativa; FBN: fixação biológica de nitrogênio; PO₄³⁻: solubilização de fosfato; AIA: produção de ácido indol-3-acético; Am: amilase; Prot: protease; Cel: celulase. Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott (p > 0,05).

Após a caracterização molecular dos isolados de bactérias endofíticas selecionadas para o teste em casa de vegetação foram identificadas 10 isolados

distribuídos em quatro espécies. A Tabela 3 mostra as espécies, bem como os respectivos números de acesso no GenBank e a porcentagem de identidade.

Tabela 3 - Identificação molecular das bactérias endofíticas utilizadas na inoculação de plantas em estufa agrícola.

Código do isolado	Acesso GenBank	Espécie	Porcentagem de identidade (%)
1.845	PP261892	<i>Pseudomonas putida</i> (OR888724)	99.17
1.854	PP261893	<i>Enterobacter asburiae</i> (OR889335)	99.39
1.912	PP261894	<i>Pseudomonas putida</i> (OR888724)	99.84
1.899	PP261895	<i>Enterobacter hormaechei</i> (CP133859)	98.99
1.908	PP261896	<i>Enterobacter hormaechei</i> (OR512938)	99.25
1.850	-	N.I	-
1.848	-	N.I	-
1.905	PP261897	<i>Enterobacter asburiae</i> (CP134642)	99.83
1.923	PP261898	<i>Enterobacter asburiae</i> (CP129497)	99.63
1.892	PP261899	<i>Enterobacter hormaechei</i> (CP106901)	100
1.867	PP261900	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (OR150320)	98.12
1.906	PP261901	<i>Enterobacter asburiae</i> (CP109692)	100

N.I = Não identificado

Após 180 dias as mudas inoculadas foram avaliadas para análise de incrementos no desenvolvimento da planta. Foi observado a modulação positiva das variáveis área foliar (AF), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca total (MST). *B. amyloliquefaciens* (1.867), *E. asburiae* (1.905), *E. asburiae* (1.906) e *E. asburiae* (1.923) aumentaram significativamente a área foliar de mudas de cacau, variando entre 54,1 e 66,3 cm² em comparação ao controle com 44 cm², resultando em aumento de até 50,6% (Tabela 4).

Tabela 4. Análise morfoagronômica das variáveis altura da parte aérea (cm), área foliar (cm²), comprimento de raiz (cm) e diâmetro do colo (mm) de plantas jovens de *Theobroma cacao* inoculadas com bactérias endofíticas.

Bactéria	ALT (cm)	AF (cm²)	CR (cm)	DC (mm)
<i>Pseudomonas putida</i> (1.845)	20 a	20,32 c	19,9 a	4,82 a
Isolado (1.848)	17,5 a	40,6 b	18,8 a	5,12 a
Isolado (1.850)	21,2 a	48,6 b	23,6 a	5,64 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.854)	19,8 a	45,7 b	21,0 a	5,44 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (1.867)	20,5 a	54,1 a	16,5 a	4,62 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.892)	19,3 a	49,0 b	17,5 a	5,57 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.899)	22,9 a	44,9 b	19,0 a	5,7 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.905)	19,2 a	58,3 a	20,6 a	5,2 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.906)	22,4 a	61,2 a	26,4 a	5,22 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.908)	19,2 a	49,0 b	20,3 a	5,04 a
<i>Pseudomonas putida</i> (1.912)	20,1 a	49,3 b	15,2 a	5,5 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.923)	20,9 a	66,3 a	20,5 a	5,2 a
Controle	21,0 a	44,0 b	16,6 a	5,5 a
CV (%)	13,02	22,9	24,8	10,71

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott ($p > 0,05$). ALT: altura; AF: área foliar; CR: comprimento da raiz; DC: diâmetro do colo.

As variáveis MFR e MST também foram melhoradas em resposta a inoculação, com incrementos variando entre 2,2 a 2,6 g para MFR (até 44,4% de aumento) e 2,3 a 3,3 g para MST (até 43,7% de aumento) (Tabela 5).

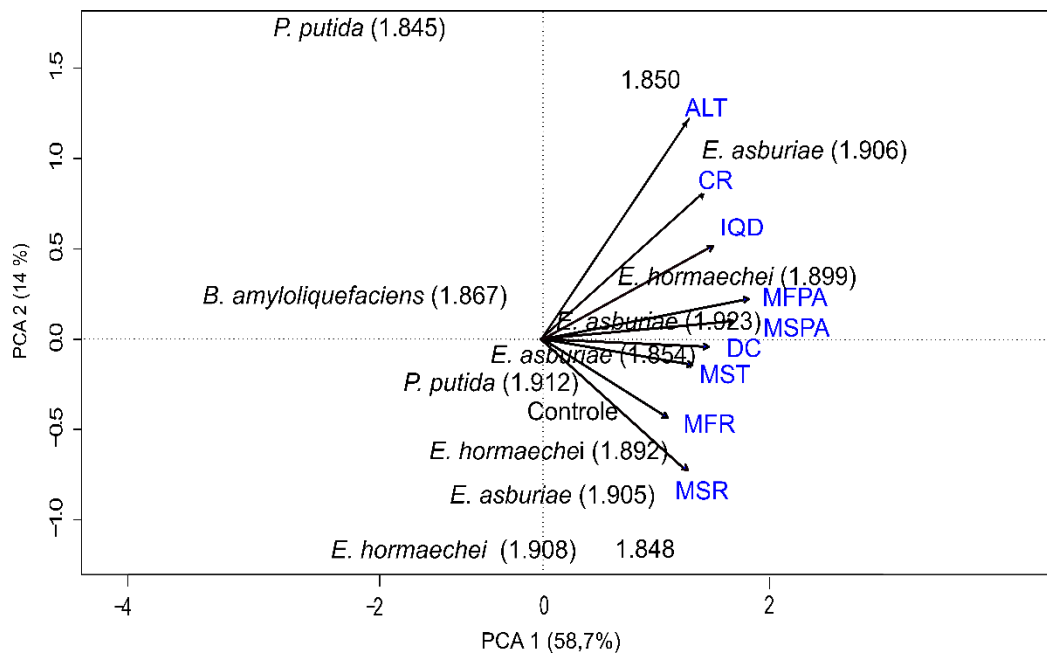
Tabela 5. Massa fresca e seca da parte aérea da parte aérea e raiz e Índice de qualidade de Dickson em plantas jovens de *Theobroma cacao* inoculadas com bactérias endofíticas.

Bactéria	MFPA (g)	MSPA (g)	MFR (g)	MSR (g)	MST (g)	IQD
<i>Pseudomonas putida</i> (1.845)	2,7 a	1,04 a	1,4 b	0,6 b	1,7 b	1,8 a
Isolado (1.848)	3,3 a	1,6 a	2,3 a	1,4 a	3,1 a	2,1 a
Isolado (1.850)	3,9 a	1,5 a	1,9 b	1,1 a	2,6 a	1,9 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.854)	3,4 a	1,4 a	2,4 a	1,3 a	2,8 a	1,8 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (1.867)	2,1 a	0,9 a	1,4 b	1,0 a	1,9 b	1,4 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.892)	3,3 a	1,3 a	2,2 a	1,2 a	2,5 a	1,8 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.899)	3,7 a	1,5 a	2,4 a	1,0 a	3,0 a	1,8 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.905)	3,1 a	1,2 a	2,6 a	1,3 a	2,5 a	1,6 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.906)	3,9 a	1,8 a	2,6 a	1,4 a	3,3 a	2,1 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.908)	2,8 a	0,9 a	2,2 a	1,3 a	2,3 a	1,2 a
<i>Pseudomonas putida</i> (1.912)	3,5 a	1,4 a	2,2 a	1,2 a	2,6 a	1,9 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.923)	3,5 a	1,6 a	2,1 a	1,4 a	3,0 a	1,8 a
Controle	3,2 a	1,2 a	1,8 b	1,1 a	2,3 b	1,8 a
CV (%)	26,6	31,8	16,5	20,3	22,2	25,3

Notas: MFPA: massa fresca da parte aérea; MSPA: massa seca da parte aérea; MFR: massa fresca da raiz; MSR: massa seca da raiz; MST: massa seca total; IQD: Índice de qualidade de Dickson. Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott ($p > 0, 05$).

A Análise de Componentes Principais revelou proporção acumulada de 72,7% (PC1 e PC2) (Figura 7). Assim, é possível inferir que as variáveis morfoagronômicas utilizadas neste trabalho, explicam 72,5% das variações observadas. Destaque para *E. hormaechei* (1.899) e *E. asburiae* (1.906) influenciando os caracteres altura e comprimento da raiz; *E. hormaechei* (1.899), *E. asburiae* (1.923) influenciando as variáveis de matéria seca e fresca da parte aérea e diâmetro do colo; *E. asburiae* (1.854) e isolado (1.848) influenciando os caracteres massa seca e fresca da raiz e matéria seca total.

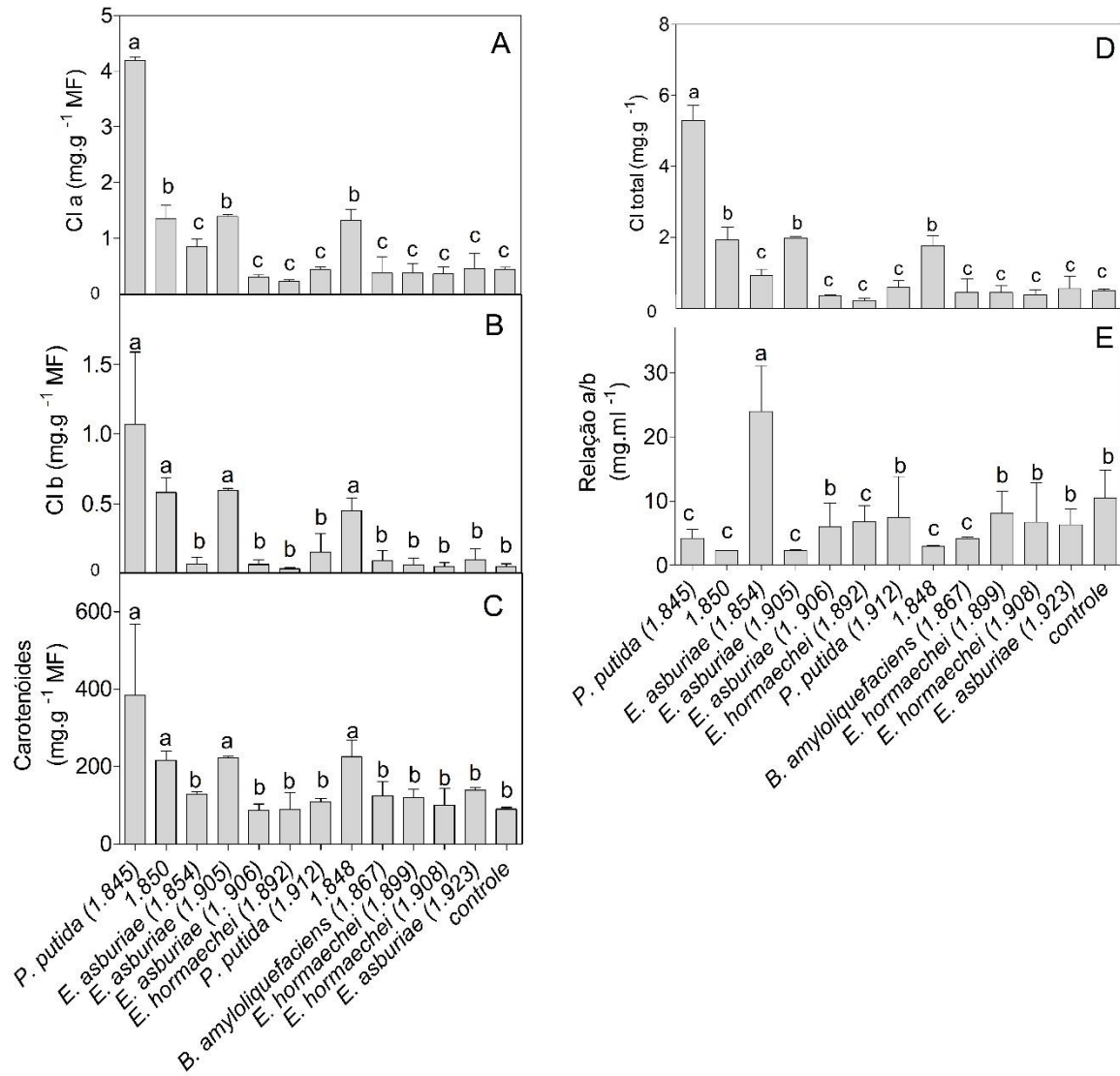
Figura 7. Análise de Componentes Principais (PCA) entre variáveis morfoagronômicas e isolados de bactérias endofíticas de *Theobroma cacao*.



ALT: Altura; CR: Comprimento da raiz; IQD: Índice de Qualidade de Dickson; MFPA: massa fresca da parte aérea; DC: Diâmetro do colo; MSPA: massa seca da parte aérea; MFR: massa fresca da raiz; MSR: massa seca da raiz; MST: massa seca total.

O teor de pigmentos foi afetado significativamente entre os tratamentos com inoculação e sem inoculação (controle). As bactérias *P. putida* (1.845), isolado (1.850), *E. asburiae* (1.905) e isolado (1.848) foram destaque e aumentaram os teores das clorofilas a e b, carotenóides e clorofila total, quando comparado ao controle (Figura 8).

Figura 8. Concentração de clorofilas a e b e carotenóides em folhas de plantas de cacauero inoculadas com bactérias endofíticas. (A) Clorofila a. (B) Clorofila b. (C) Carotenóides. (D) Clorofila total. (E) Relação clorofila a/b.



Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott ($p > 0, 05$).

4.4 DISCUSSÃO

Bactérias endofíticas de *T. cacao* demonstraram atividade FBN. Este processo, realizado por procariotos, resulta em produção da enzima nitrogenase para formação de nitrogênio fixo na planta (SOUMARE et al., 2020). Deste modo, o uso de alternativas sustentáveis de fertilização tem ganho espaço. Todavia, nota-se uma preferência por estudos com leguminosas, de modo que estudos com a inoculação de não-leguminosas são realizados em menor escala, como é o caso de espécies da família Malvaceae, se enquadrando *Theobroma cacao* (NAG; DAS, 2020). Assim, este trabalho gera subsídios para o desenvolvimento de biofertilizantes que agreguem a cadeia produtiva, por meio da detecção de isolados fixadoras de nitrogênio.

Os isolados apresentaram atividade para solubilização de fosfato, indicando a capacidade de hidrolizar o fósforo orgânico pela ação de fosfatases. Levando em consideração que a disponibilidade de P na solução do solo é fortemente afetada por fatores abióticos, esta habilidade desenvolvida por bactérias endofíticas, dão espaço para uma ótima forma de aumentar a disponibilidade do nutriente à planta, refletindo aumento de biomassa para a planta (MATOS et al., 2017)

Bactérias endofíticas de cacau também apresentaram capacidade de utilizar ACC como fonte de N, pela produção da enzima ACC deaminase (Figura 3). A produção dessa enzima por bactérias tem papel fundamental no controle de estresses abióticos em plantas, principalmente estresse salino, onde a enzima cliva o ACC (precursor direto do hormônio etileno) aliviando os níveis de estresse (MOON; ALI, 2020). Bactérias endofíticas produtoras de ACC deaminase também são capazes de aliviar o estresse aumentando a defesa antioxidante da planta em ambiente salino, fato este comprovado para *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* a qual foram capazes de aumentar os níveis de produção de glutathione, superóxido dismutase, catalase, peroxidase e glutathione redutase em plantas de *Pisum sativum* em ambiente salino (SOFY et al., 2021).

O teste fisiológico para detecção da produção de ácido indol-3-acético revelou 29 bactérias produtoras deste hormônio, com destaque para *E. hormaechei* (1.892). Estudos revelam a potencialidade de endófitos de *E. hormaechei* na detecção de ácido indol-3-acético, com produção de até 195,55 µg/mL verificadas em isolados de *Chrysopogon zizanioides* (KHIANNAM et al., 2023). O ácido indol-3-acético é a

auxina mais importante modulada por bactérias, apresentando benefícios desde em processos básicos de diferenciação celular, embriogênese até mesmo regulando positivamente outros processos, como a atividade da nitrogenase e ACC sintase (PERROT-RECHENMANN, 2010; DEFEZ et al., 2017; SELDIMIROVA et al., 2019; GLICK, 2020).

Endófitos bacterianos de *T. cacao* foram eficientes na supressão *in vitro* do patógeno *M. perniciosa*. Estudos recentes demonstram a eficiência de endófitos, podendo reduzir até 90% do crescimento do patógeno. Isolados de clones de cacauero no Equador, como *Bacillus thuringiensis*, *B. mycoides* e *B. cereus* são alguns relatados na literatura (MELNICK et al., 2011). Outros estudos avaliando o potencial de endófitos antagonistas a *Phytophthora palmivora*, agente causal da podridão parda em cacauero, revelaram que o efeito antagonista provém de compostos orgânicos voláteis (VOCs) como eicosano, tetratetracontano, heneicosano, podendo estar relacionado aos possíveis mecanismos de controle utilizados pelas bactérias neste estudo (ALSULTAN et al., 2019).

A produção de enzimas hidrolíticas foram evidenciadas. Enzimas produzidas por microrganismos endofíticos tem como principais alvos as macromoléculas como carboidratos, lignina, fosfato orgânico, proteínas e polímeros à base de açúcar, com o objetivo de catalisar a quebra de moléculas para o transporte através das células vegetais (AFZAL et al., 2019). Além disso, apresentam papel essencial no mecanismo de colonização do hospedeiro bem como a neutralização de infecções patogênicas, também relacionando-se aos possíveis mecanismos utilizado por bactérias de *T. cacao* na supressão *in vitro* do patógeno. Dessa forma, o rastreamento dessas substâncias são de grande importante na triagem de possíveis isolados bacterianos como potencial de inibição da doença (KHAN et al., 2017). *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Microbacterium* são alguns exemplos de endófitos bacterianos com atividades enzimáticas comprovadas para ACC deaminase, celulase, protease, amilase e pectinase (CHIMWAMUROMBE et al. 2016; JOE et al., 2016).

As análises em casa de vegetação revelaram incrementos em caracteres vegetativos em planta de *T. cacao*, principalmente oriundo da inoculação com a bactéria *Enterobacter asburiae*. Tais resultados relacionam-se a capacidade dessas isolados em realizar fixação biológica de nitrogênio, solubilizar fosfato, produzir AIA, ACC deaminase e enzimas líticas, aos quais foram evidenciadas neste trabalho.

Estudos tem comprovado os efeitos benéficos de isolados de *E. asburiae* na melhoria do crescimento de plantas. A inoculação de plantas de quinoa, com *E. asburiae*, por exemplo, proporcionou aumento nos teores de matéria seca, tolerância ao estresse salino, aumento na absorção de nutrientes (P e K) e ainda foi capaz de solubilizar fosfato e produzir AIA (MAHDI et al., 2020). Não há relatos na literatura de promoção de crescimento de mudas de cacauete inoculados com *E. asburiae*. Todavia, outra espécie que pertence ao gênero *Enterobacter* (*E. cloacae*) foi validado como potencial estimulador de *T. cacao*, gerando incrementos em caracteres de crescimento vegetativo e aumento de taxas fotossintéticas (LEITE et al., 2013).

Os isolados de *E. asburiae* proporcionaram os maiores incrementos para área foliar (AF), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca total (MST). Tais resultados podem estar relacionados a eficiência no processo de colonização, visto que isolado de *E. asburiae* apresentaram produção de enzimas extracelulares como protease e celulase que facilitam a entrada dos endófitos no tecido vegetal (DINIZ et al., 2020). Os incrementos sob a matéria fresca refletem o maior conteúdo de água nos tecidos vegetais. Estudos apontam que avaliar a matéria fresca em experimentos de promoção de crescimento por bactérias podendo estar relacionado a maior eficiência no uso da água pelas plantas inoculadas ou simplesmente uma variável afetada por numerosos parâmetros ambientais, incluindo umidade relativa, temperatura e não necessariamente relacionada aos efeitos da bactéria. Porém é importante ressaltar que os incrementos sob matéria seca foram observados neste estudo, demonstrando que estes aumentos são consistentes entre matéria seca e fresca (HUANG et al., 2017).

Além disso, deve ser levado em consideração que os isolados produziram altas concentrações de AIA, bem como foram capazes de fixar biologicamente o nitrogênio, solubilizar fosfato e produzir ACC deaminase. Estudos comprovam que a inoculação favorece o acúmulo de AIA no ápice da raiz contribuindo para diferenciação celular e conseqüentemente favorecendo alongamento do tecido (CHEN et al., 2012). Fatores nutricionais como fornecimento de N e P assimiláveis na solução do solo, contribuem para síntese de carboidratos e produção de energia para compor o tecido vegetal. Outro fator preponderante é a síntese de ACC deaminase por bactérias endofíticas que reduz os níveis de etileno (RUZICKA et al., 2007; KHAN et al., 2016).

As bactérias *P. putida* (1.845), *E. asburiae* (1.905) isolado 1.850 e isolado 1.848 foram destaque e aumentaram os teores das clorofilas a e b, carotenóides e clorofila total, quando comparado ao controle. Clorofilas e carotenóides são pigmentos de grande importância para manutenção da eficiência fotossintética. Devido a processos de oxi-redução, desencadeada pela excitação das clorofilas e carotenóides, a energia luminosa é convertida em energia química (ATP e NADPH) (SIMKIM et al., 2022). Em condições tropicais, as plantas estão constantemente sujeitas a estresse luminoso, podendo desencadear a foto-oxidação dos pigmentos. Dessa forma, os pigmentos também são importantes indicadores bioquímicos de estresse (STREIT, 2005).

Os pigmentos acessórios são um fator de proteção e prevenção contra foto-oxidação da clorofila a, sendo extremamente importante para manutenção da produção em plantios nos trópicos, como é o caso de plantio de *T. cacao*. Estudos demonstram a modulação positiva nos níveis de clorofilas em soja inoculada com *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum brasilense*, reduz os danos oxidativos e aumentando o rendimento de grãos durante períodos de seca (MORETTI et al., 2021).

Em outros estudos também realizados com *Pseudomonas putida* tem relacionado a esta bactéria a redução de estresse salino e hídrico em plantas de soja, modulando os níveis de clorofila, superóxido dismutase e eliminação de radicais livres. A reprogramação gênica relacionada a inoculação de *P. putida*, auxilia, em maiores níveis de pigmentos, hormônios e antioxidantes, sendo assim considerada um inoculante promissor a ser utilizado em ambientes estressantes (KANG et al., 2014).

Parâmetros de crescimento vegetal e teor de clorofilas em mudas de *Mentha piperita* inoculadas com isolados de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas putida* foi observado que ambas foram capazes de modular os níveis de clorofilas e carotenóides. Sabe-se que a eficiência fotossintética é um parâmetro importante na resposta frente a estresses ambientais. Tal fato pode estar relacionado a maior capacidade de absorção de água e nutrientes pela planta, tornando-as menos suscetíveis aos estresses oxidativos que danificam o aparelho fotossintético (CAPPELLARI et al., 2015).

4.5 CONCLUSÕES

Plantas de *Theobroma cacao* da região Amazônica apresentam comunidade de bactérias endofíticas promotoras de crescimento vegetal direto e indireto. Do total de 155 isolados, 123 bactérias expressam atividades biológicas de fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, produção de ácido indol-3-acético e produzem enzimas como ACC deaminase, celulase, protease e amilase. Além disso os isolados têm potencial de inibição *in vitro* do patógeno *Moniliophthora perniciosa*, causador da vassoura-de-bruxa do cacau. 12 bactérias apresentando múltiplas atividades de promoção de crescimento direto e indireto foram identificadas molecularmente.

Os isolados *Enterobacter asburiae* (1.923), *Enterobacter asburiae* (1.905) e *Enterobacter asburiae* (1.906) promoveram o crescimento vegetal em plantas jovens de cacau. *Pseudomonas putida* (1.845), *Enterobacter asburiae* (1.905), isolados 1.850 e 1.848 aumentaram o teor de clorofilas e carotenoides. Portanto, bactérias endofíticas isoladas de *Theobroma cacao* demonstram potencial para integrarem novas tecnologias para produção sustentável de cacau na Amazônia, visto serem capazes de gerar incrementos no crescimento da planta. É recomendado para testes futuros a formação de consórcios bacterianos e ainda a utilização da nanotecnologia de encapsulamento dos melhores isolados, para manutenção das características fisiológicas e maior sobrevivência dos isolados em campo.

REFERÊNCIAS

- AFZAL, I.; SHINWARI, Z. K.; SIKANDAR, S.; SHAHZAD, S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v. 221, p. 36-49, 2019.
- AFZAL, I.; SHINWARI, Z. K.; SIKANDAR, S.; SHAHZAD, S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v. 221, p. 36-49, 2019.
- ALSULTAN, W.; VADAMALAI, G.; KHAIRULMAZMI, A.; SAUD, H. M.; AL-SADI, A. M.; RASHED, O.; JAAFFAR A. K. M.; NASEHI, A. Isolation, identification and characterization of endophytic bacteria antagonistic to *Phytophthora palmivora* causing black pod of cocoa in Malaysia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 155, n. 4, p. 1077-1091, 2019.
- ARAÚJO, W. L., LACAVA, P. T., MARCON, J., LIMA, A. O. S., SOBRAL, J. K., PIZZIRANI-KLEINER, A. A., & AZEVEDO, J. L. (2010). **Guia prático: Isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos**. Cop. Luiz de Queiroz, Piracicaba, 167p.
- AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. **Ecologia microbiana**, p. 117-137, 1998.
- BARTLETT, M. S. Some examples of statistical methods of research in agriculture and applied biology. **Supplement to the Journal of the Royal Statistical Society**, v. 4, n. 2, p. 137-183, 1937.
- BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspective for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 84, [s.n.], p. 10-18, 2009.
- BHATTACHARYYA, P.N.; JHA, D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.28, [s.n.], p. 1327-1350, 2012.
- BODDEY, R. M.; MÜLLER, S. H.; ALVES, Bruno J. R. Estimation of the contribution of biological N₂ fixation to two *Phaseolus vulgaris* genotypes using simulation of plant nitrogen uptake from 15 N-labelled soil. **Fertilizer Research**, v. 45, p. 169-185, 1995.
- CHEN, Y. H.; CHAO, Y. Y.; HSU, Y. Y.; HONG, C. Y.; KAO, C. H. Heme oxygenase is involved in nitric oxide-and auxin-induced lateral root formation in rice. **Plant Cell Reports**, v. 31, p. 1085-1091, 2012.
- CHIMWAMUROMBE, P. M.; GRÖNEMEYER, J. L.; REINHOLD-HUREK, B. Isolation and characterization of culturable seed-associated bacterial endophytes from gnotobiotically grown Marama bean seedlings. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92, n. 6, p. 83, 2016.
- DEFEZ, R.; ANDREOZZI, A.; BIANCO, C. The overproduction of indole-3-acetic acid (IAA) in endophytes upregulates nitrogen fixation in both bacterial cultures and inoculated rice plants. **Microbial Ecology**, v. 74, n. 2, p. 441-452, 2017.

DEL ROSARIO CAPPELLARI, L.; SANTORO, M. V.; REINOSO, H.; TRAVAGLIA, C.; GIORDANO, W.; BANCHIO, E. Anatomical, morphological, and phytochemical effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on peppermint (*Mentha piperita*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 41, p. 149-158, 2015.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forestry Chronicle**, v. 36, p. 10-13, 1960.

DINGLE, J.; REID, W. W.; SOLOMONS, G. L. The enzymic degradation of pectin and other polysaccharides. II—Application of the 'Cup-plate' assay to the estimation of enzymes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 4, n. 3, p. 149-155, 1953.

DINIZ, F. V.; MAGALHÃES, Y. M.; DA PAZ, F. S.; GOMES, L. C.; SANTOS, G. S.; CARVALHO, C. M. Atividade enzimática de fungos endofíticos de bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.). **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 10, n. 3, p. 7-11, 2020.

EMBRAPA. **Estudo mostra expansão sustentável do cacau na Amazônia**. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/71719295/estudo-mostra-expansao-sustentavel-do-cacau-na-amazonia>. Acesso em: 24 jan. 2023.

EVANS, H. C. Witches' broom disease (*Moniliophthora perniciosa*): History and biology. In: BAILEY, B. A.; MEINHARDT, L. W. **Cacao Diseases, A History of Old Enemies and New Encounters**. Switzerland: Springer, 2016, p. 137-177

GLICK, B. R. Modulating phytohormone levels. In: GLICK, B. R. (eds). **Beneficial Plant-Bacterial Interactions**. Springer, 2020. p. 139-180.

GLICK, B. R.; KARATUROVÍČ, D.M.; NEWELL, P. C. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 533-536, 1995.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycologia**, v. 67, n. 3, p. 597-607, 1975.

HARTMANN, A.; SINGH, M.; KLINGMULLER, W. Isolation and characterization of *Azospirillum* mutants excreting high amounts of indoleacetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 29, p. 916-923, 1983.

HEUER, H.; KRSEK, M.; BAKER, P.; SMALLA, K.; WELLINGTON, E. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 8, p. 3233-3241, 1997.

ICCO - **International Cocoa Organization**. 2017. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. Vol XLIV, n 3. ICCO. Disponível em: <https://www.icco.org>> Acesso em 03 mar 2020.

JOE M. M.; DEVARAJ, S.; BENSON A, SA, T. Isolation of phosphate solubilizing endophytic bacteria from *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn: Evaluation of plant

growth promotion and antioxidant activity under salt stress. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n. 2, p. 71-77, 2016.

KANG, S. M.; RADHAKRISHNAN, R.; KHAN, A. L.; KIM, M. J.; PARK, J. M.; KIM, B. R.; SHIN, D. H.; LEE, I. J. Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 84, p. 115-124, 2014.

KHAN, A. L.; HALO, B. A.; ELYASSI, A.; ALI, S.; AL-HOSNI, K.; HUSSAIN, J.; LEE, I. J.; AL-HARRASI, A.; IN-JUNG L. Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 21, p. 58-64, 2016.

KUMAR, S.; KAUSHIK, N. Metabolites of endophytic fungi as novel source of biofungicide: a review. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 4, p. 507-522, 2012.

LANA, U. G. DE P.; RIBEIRO V. P.; GOMES, E. A.; OLIVEIRA, C. A. **Seleção em larga escala de bactérias produtoras do hormônio ácido indolacético (AIA), auxina associada à promoção de crescimento em plantas**. Sete Lagoas: Embrapa Sorgo e Milho, 2017. 10 p. (Documentos, 218)

LEITE, H. A. C.; SILVA, A. B.; GOMES, F. P.; GRAMACHO, K. P.; FARIA, J. C.; DE SOUZA, J. T.; LOGUERCIO, L. L. *Bacillus subtilis* and *Enterobacter cloacae* endophytes from healthy *Theobroma cacao* L. trees can systemically colonize seedlings and promote growth. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 2639-2651, 2013.

LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, p. 591-592, 1983.

MAHDI, I.; FAHSI, N.; HAFIDI, M.; ALLAOUI, A.; BISKRI, L. Plant growth enhancement using rhizospheric halotolerant phosphate solubilizing bacterium *Bacillus licheniformis* QA1 and *Enterobacter asburiae* QF11 isolated from *Chenopodium quinoa* willd. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 948, 2020.

MATOS, A. D.; GOMES, I. C.; NIETSCH, S.; XAVIER, A. A.; GOMES, W. S.; DOS SANTOS, J. A.; PEREIRA, M. C. Phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from banana trees. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, 2945-2954, 2017.

MEDDEB-MOUELHI, F.; MOISAN, J. K.; BEAUREGARD, M. A comparison of plate assay methods for detecting extracellular cellulase and xylanase activity. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 66, p. 16-19, 2014.

MELNICK, R. L.; SUÁREZ, C.; BAILEY, B. A.; BACKMAN, P. A. Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. **Biological Control**, v. 57, n. 3, p. 236-245, 2011.

MOON, Y. S.; ALI, S. Possible mechanisms for the equilibrium of ACC and role of ACC deaminase-producing bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 3, p. 877-887, 2022.

MORETTI, L. G.; CRUSCIOL, C. A. C.; BOSSOLANI, J. W.; CALONEGO, J. C.; MOREIRA, A.; GARCIA, A.; MOMESSO, L.; KURAMAE, E. E.; HUNGRIA, M. Beneficial microbial species and metabolites alleviate soybean oxidative damage and increase grain yield during short dry spells. **European Journal of Agronomy**, v. 127, p. 126293, 2021.

NAG, P.; SHRITI, S.; DAS, S. Microbiological strategies for enhancing biological nitrogen fixation in nonlegumes. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 2, p. 186-198, 2020.

PANDEY, S.; GUPTA, S. Evaluation of *Pseudomonas* sp. for its multifarious plant growth promoting potential and its ability to alleviate biotic and abiotic stress in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-15, 2020.

PERROT-RECHENMANN, C. Cellular responses to auxin: division versus expansion. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 5, p. 1446, 2010.

ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de plantas: procedimento**. Viçosa, Editora UFV, 2007. 172p.

RUZICKA, K.; LJUNG, K.; VANNESTE, S.; PODHORSKÁ, R.; BEECKMAN, T.; FRIML, J.; BENKOVÁ, E. Ethylene regulates root growth through effects on auxin biosynthesis and transport-dependent auxin distribution. **The Plant Cell**, v. 19, n. 7, p. 2197-2212, 2007.

SELDIMIROVA, O. A.; KUDOYAROVA, G. R.; KRUGLOVA, N. N.; GALIN, I. R.; VESELOV, D. S. Somatic embryogenesis in wheat and barley calli *in vitro* is determined by the level of indoleacetic and abscisic acids. **Russian Journal of Developmental Biology**, v. 50, n. 3, p. 124-135, 2019.

SENAR - Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Cacau: produção, manejo e colheita**. Serviço Nacional de Aprendizagem Rural, 2018. 41p.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SIERRA, G. A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 23, n. 1, p. 15-22, 1957.

SIMKIN, A. J.; KAPOOR, L.; DOSS, C. G. P.; HOFMANN, T. A.; LAWSON, T.; RAMAMOORTHY, S. The role of photosynthesis related pigments in light harvesting, photoprotection and enhancement of photosynthetic yield in planta. **Photosynthesis Research**, v. 152, n. 1, p. 23-42, 2022.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Ames: Iowa State University Press, 1948. 503 p.

SOFY, M. R.; ABOSEIDAH, A. A.; HENEIDAK, S. A.; AHMED, H. R. ACC deaminase containing endophytic bacteria ameliorate salt stress in *Pisum sativum* through reduced oxidative damage and induction of antioxidative defense systems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 40971-40991, 2021.

TIRADO-GALLEGO, P. A.; LOPERA-ÁLVAREZ, A.; RÍOS-OSORIO, L. A. Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. **Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 17, n. 3, p. 417-430, 2016.

VENTURIERI, A., DE OLIVEIRA, R. R. S. IGAWA, T. K.; FERNANDES, K. D. A.; ADAMI, M.; DE OLIVEIRA JÚNIOR, M. C. M; ALMEIDA, C. A.; SILVA, L. G. T.; CABRAL, A. I. R.; PINTO, J. F. K. C.; MENEZES, A. J. E. A. de; SAMPAIO, S. M. N. The sustainable expansion of the cocoa crop in the state of Pará and its contribution to altered areas recovery and fire reduction. **Journal of Geographic Information System**, v.14, n. 3, p. 294-313, 2022

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

KHIANGAM, S.; MEETUM, P.; CHIANGMAI, P. N.; TANASUPAWAT, S. Identification and optimisation of indole-3-acetic acid production of endophytic bacteria and their effects on plant growth. **Tropical Life Sciences Research**, v. 34, n. 1, p. 219, 2023.

HUANG, P.; DE-BASHAN, L.; CROCKER, T.; KLOEPPER, J. W.; BASHAN, Y. Evidence that fresh weight measurement is imprecise for reporting the effect of plant growth-promoting (rhizo) bacteria on growth promotion of crop plants. **Biology and Fertility of Soils**, v. 53, p. 199-208, 2017.

SOUMARE, A.; DIEDHIOU, A. G.; THUITA, M.; HAFIDI, M.; OUHDOUCH, Y.; GOPALAKRISHNAN, S.; KOUISNI, L. Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. **Plants**, v. 9, n. 8, p. 1011, 2020.

5 CAPÍTULO III

***Pseudomonas putida* E *Enterobacter hormaechei* ISOLADOS DE
CACAUEIROS NATIVOS DA AMAZÔNIA PROMOVEM O CRESCIMENTO EM
PLANTAS DE SOJA (*Glycine max* L.)**

RESUMO

A soja é uma das leguminosas mais beneficiadas com a utilização de inoculantes bacterianos. Essa tecnologia tem resultado em agricultura mais sustentável e com altos ganhos produtivos. Nesse sentido, a Amazônia é fonte de bactérias pouco exploradas com potencial para serem utilizadas na agricultura. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a promoção de crescimento de soja (*Glycine max* L.) sob efeito da aplicação de bactérias endofíticas isoladas de cacauzeiros nativos da Amazônia. Para isso, 12 isolados de bactérias endofíticas, com caracteres fisiológicos de promoção de crescimento vegetal foram selecionadas para inoculação em sementes de soja. Primeiramente foi realizado teste de germinação *in vitro* onde as sementes de soja foram imersas em suspensão bacteriana e incubadas sob condições controladas. Após 7 dias, foram avaliados a porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e biomassa fresca e seca. Posteriormente ao teste de germinação, procedeu-se ao teste de promoção de crescimento de soja em casa de vegetação, onde as sementes foram inoculadas e semeadas em vaso contendo substrato orgânico. Após 30 dias, as variáveis morfoagronômicas foram avaliadas. Os testes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com 13 tratamentos e 5 repetições, composto por 12 isolados mais o controle utilizando água. Oito bactérias apresentaram resultados significativos para o teste de germinação, com destaque para o isolado *Pseudomonas putida* (1.845) que proporcionou incrementos significativos de 35,3%, 50% e 68,4% para germinação (%), IVG e biomassa seca, respectivamente. Em casa de vegetação foi observado incrementos superiores em plantas inoculadas, com destaque para o isolado 1.848, apresentado maiores resultados para altura, MFPA e MSPA. Tais resultados comprovam que isolados de bactérias endofíticas oriundas da Amazônia, tem potencial para compor novas formulações para ingressarem no mercado de inoculantes, principalmente para cultivos de soja da região Amazônica.

Palavras-chaves: Inoculante; BPCV; *Pseudomonas*; *Enterobacter*.

ABSTRACT

Soybean is one of the legumes that most benefits from the use of bacterial inoculants. This technology has resulted in more sustainable agriculture and high production gains. In this sense, the Amazon is a source of little explored bacterial strains with the potential to be used in agriculture. Therefore, the objective of this study was to evaluate the growth promotion of soybean (*Glycine max* L.) under the effect of the application of Amazonian endophytic bacteria. For this, 12 strains of endophytic bacteria, with physiological characteristics that promote plant growth, were selected for inoculation into soybean seeds. Firstly, an *in vitro* germination test was carried out where the soybean seeds were immersed in a bacterial suspension and incubated under controlled conditions. After 7 days, the percentage of germination, germination speed index (GVI) and fresh and dry biomass were evaluated. After the germination test, a soybean growth promotion test was carried out in a greenhouse, where the seeds were inoculated and sown in a pot containing organic substrate. After 30 days, the morphoagronomic variables were evaluated. The tests were conducted in a completely randomized design with 13 treatments, consisting of 12 strains plus the control using water. Eight bacteria presented significant results for the germination test, with emphasis on the *Pseudomonas putida* strain (1,845) which provided significant increases of 35,3%, 50% and 68,4% for germination (%), IVG and dry biomass, respectively. In a greenhouse, higher increases were observed in inoculated plants, with emphasis on the isolate (1,848), which presented higher results for height, MFPA and MSPA. These results prove that isolates of endophytic bacteria from the Amazon have the potential to compose new formulations to enter the inoculant market, mainly for soybean crops in the Amazon region.

Keywords: Inoculant; PGP; *Pseudomonas*; *Enterobacter*.

5.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o 4º maior produtor de alimentos do mundo com produção cotada em US\$ 135,8 bilhões e destaque em pesquisa e comercialização de bioinoculantes (AMBONI, 2023). Tal fato tem contribuído para que a agricultura no Brasil seja sinônimo de crescimento econômico. A soja se enquadra entre as principais commodities comercializadas desempenhando papel fundamental na segurança do abastecimento alimentar global com produção equivalente de 355,588 milhões de toneladas cultivados em 130,935 milhões de hectares (EMBRAPA, 2022). A soja tem se mostrado como a cultura ideal para o uso de bioinoculantes devido ao processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN), resultando em taxas de fornecimento de nitrogênio superiores a 80%, com alto rendimento de grãos (ZILLI et al., 2021).

Segundo a Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII, 2023), em 2023 o Brasil utilizou mais de 130 milhões de doses de inoculantes biológicos nas lavouras. O uso desta tecnologia soma inúmeros benefícios como a economia na utilização de N mineral ultrapassando US\$ 13 bilhões (HUNGRIA; MENDES 2015). Além disso, cerca de 236 milhões de toneladas de equivalentes de CO₂ deixam de ser liberados na atmosfera como consequência aos usos de inoculantes (ANPII, 2023).

Nesse sentido, o uso de microrganismos benéficos com destaque para bactérias endofíticas, tem mostrado importante fonte para descoberta de novos isolados para integrarem à tecnologia dos inoculantes. Esse fato deve-se aos benefícios no desenvolvimento da planta, como fixação e solubilização de nutrientes como nitrogênio, fósforo e ferro ou até mesmo modulando os próprios níveis de hormônios vegetais que participam da diferenciação celular com as auxinas, citocininas ou etileno (SANTOYO et al., 2016). A defesa vegetal também é estimulada, visto a produção de antibióticos, enzimas de degradação da parede celular e síntese de composto voláteis aos quais irão atuar no controle pragas e patógenos, além de melhorar a performance da planta frente a estresse abióticos (GLICK, 2015). Dessa forma, a utilização de microrganismos se enquadra como importante estratégia para o desenvolvimento de bioinoculantes para agricultura, destacando o aumento de produtividade de soja (*Glycine max* L.)

Nesse sentido, a Amazônia brasileira é um hotspot de biodiversidade para pesquisa de espécies bacterianas pouco exploradas. Estudos tem demonstrado que

isolados provenientes de diferentes nichos, como em associação aos tecidos vegetais, tem gerado incrementos em espécies agronômicas como o milho, onde foi visto que *Burkholderia ambifaria*, originalmente isolado de guaraná amazônico (*Paullinia cupana*), gerou ganhos na inoculação de milho, resultando em incrementos em parâmetros de crescimento (BATISTA et al., 2018).

Bactérias endofíticas são uma importante ferramenta no desenvolvimento de novas tecnologias no setor agrícola, sobretudo para inserção na produção de grãos, em especial a soja. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar bactérias endofíticas provenientes de matrizes de *Theobroma cacao* da Amazônia, para verificação do potencial de crescimento e desenvolvimento vegetal da soja (*Glycine max* L.).

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Doze bactérias endofíticas com caracteres fisiológicos de promoção de crescimento vegetal foram selecionadas para inoculação em sementes de soja. Os isolados selecionados foram: *Pseudomonas putida* (1.845), *Enterobacter asburiae* (1.854), *Enterobacter hormaecehi* (1.892), *Enterobacter hormaecehi* (1.899), *Enterobacter asburiae* (1.905), *Enterobacter hormaecehi* (1.908), *Pseudomonas putida* (1.912), *Enterobacter asburiae* (1.923), *Bacillus amyloliquefaciens* (1.867), *Enterobacter asburiae* (1.906) e isolados 1.848 e 1.850. Todos os isolados foram obtidos do acervo do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Acre e foram originalmente isolados do tecido vegetal de matrizes de *Theobroma cacao* nativos da Amazônia. As bactérias foram previamente cultivadas em meio de cultura TSB à 28 °C por 24h para realização dos testes de promoção de crescimento vegetal de soja.

5.2.1 Análise de germinação de sementes de soja inoculadas

Sementes de soja, variedade Bônus, foram coletadas para o ensaio de germinação. Primeiramente as sementes foram desinfestadas superficialmente pela imersão em hipoclorito de sódio à 2% por 5 minutos seguido de lavagem em água destilada autoclavada e então secas em papel toalha. Posteriormente, foi realizado o preparo do inóculo bacteriano que consistiu no preparo de soluções formadas por

água destilada autoclavada + isolado bacteriano. Cada solução teve concentração de células ajustada para 10^8 UFC/mL com auxílio da escala de McFarland (ARAÚJO et al., 2010). Foram preparadas 12 soluções bacterianas, cada uma contendo apenas um isolado a ser testado, mais a solução contendo somente água destilada autoclavada (controle), totalizando 13 tratamentos.

Após o preparo, as sementes foram imersas por 30 minutos na solução para que houvesse o contato direto entre bactéria e sementes. Logo após, 20 sementes foram distribuídas por placas de Petri forradas com papel filtro umedecido com água destilada autoclavada. As placas foram incubadas por 7 dias sob fotoperíodo de 12/12 h à 22 °C (claro/escuro). Diariamente foram contabilizadas as sementes germinadas. O teste de germinação consistiu em avaliar as 12 isolados distintos mais a solução controle (água), totalizando 13 tratamentos com 3 repetições. As variáveis analisadas foram germinação (%), índice de velocidade de germinação (IVG), biomassa fresca e biomassa seca. As variáveis foram obtidas da seguinte forma (CHU et al., 2019):

1. *Germinação (%)* = (sementes germinadas/ nº total de sementes) x 10
2. *IVG* = $(G1/N1) + (G2/N2) + \dots + (Gn/Nn)$
 - G1, G2, Gn = número de plântulas normais computadas na primeira, na segunda até a última contagem;
 - N1, N2, Nn = número de dias após a semeadura, na primeira, na segunda até a última contagem;
3. *Biomassa fresca (g)*: Imediatamente após o teste de germinação foi realizado a da biomassa fresca das plântulas utilizando uma balança analítica;
4. *Biomassa seca (g)*: As plântulas foram secas utilizando estufa de secagem ajustada a temperatura de 60 °C por 48 horas. Após este período as amostras foram pesadas em balança analítica.

5.2.2 Análise do crescimento de soja inoculada em casa de vegetação

Sementes de soja, variedade Bônus, foram desinfestadas superficialmente pela imersão em hipoclorito de sódio à 2% por 5 minutos seguido de lavagem em água destilada autoclavada e então secas em papel toalha, em seguida foram

imersas em solução formada por água + 10^8 UFC/mL por 30 minutos. Após a inoculação, quatro sementes foram semeadas por vasos de 1L contendo substrato orgânico composto por terra vegetal e areia na proporção 2:1. Após quatro dias, foi realizado o desbaste para manter somente a planta mais vigorosa em cada vaso. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) composto por 13 tratamentos e 5 repetições, ou seja, 12 isolados bacterianos, mais o controle composto por água. A duração total do experimento foi de 30 dias. Ao final do experimento, as seguintes variáveis morfoagronômicas foram avaliadas:

1. **Altura (cm):** foi utilizado uma fita métrica para medição desta variável, que consistiu da mensuração em centímetros do colo até o meristema apical da planta;
2. **Comprimento da raiz (cm):** foi utilizada uma fita métrica para medição desta variável. Para isso a mensuração foi iniciada na base do colo até o meristema apical da raiz;
3. **Massa fresca da parte aérea (g):** Imediatamente após a finalização do experimento, a parte aérea das plantas foram pesadas com auxílio de uma balança semi-analítica para aferição das massas frescas;
4. **Massa fresca da raiz (g):** Imediatamente após a finalização do experimento, a raiz das plantas foram pesadas com auxílio de uma balança semi-analítica para aferição da massa fresca;
5. **Massa seca da parte aérea (g):** A parte aérea das plantas foram submetidas a secagem. Para isso foi utilizada uma estufa com temperatura ajustada à 60° C por um período total de 72h. Após a secagem, as amostras foram pesadas com auxílio de uma balança semi-analítica para aferição das massas secas;
6. **Massa seca da raiz (g):** A raiz das plantas foram submetidas a secagem. Para isso as amostras foram secas em estufa ajustada à temperatura à 60° C por um período total de 72 h. Após a secagem, as amostras foram pesadas com auxílio de uma balança semi-analítica para aferição das massas secas;
7. **Diâmetro do colo (mm):** Obtida pela mensuração direta com auxílio de um paquímetro digital.

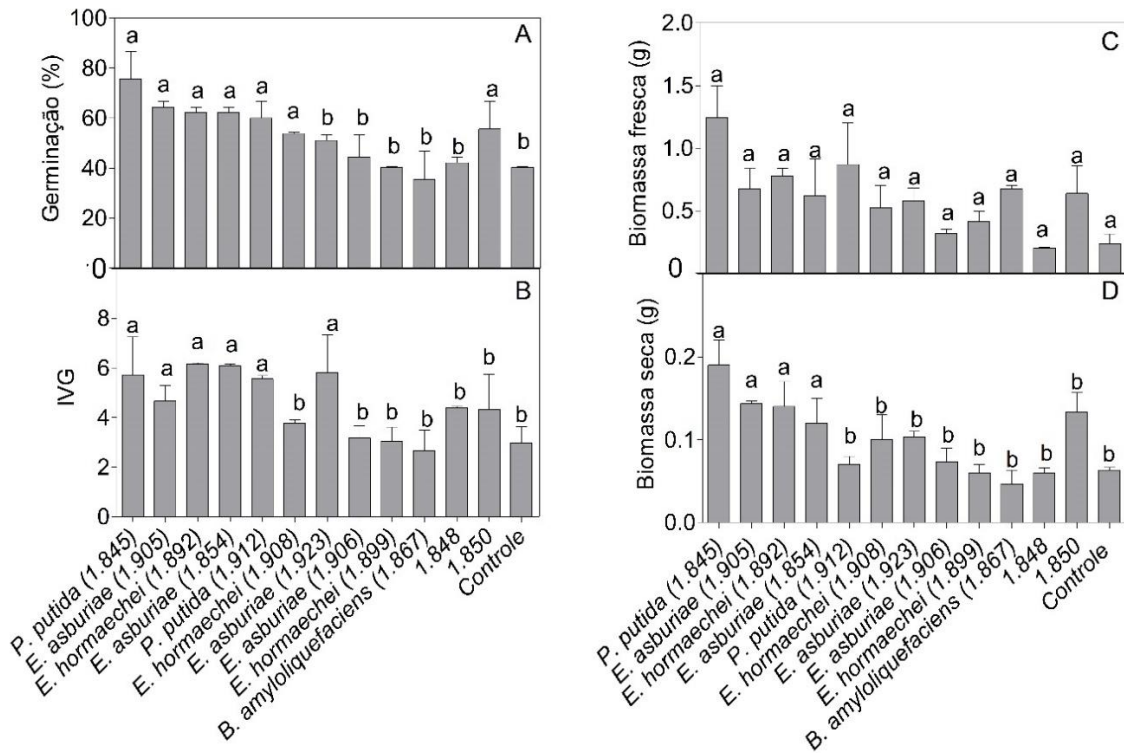
5.2.3 Análise de dados

Os dados obtidos a partir dos testes em casa de vegetação foram submetidos à verificação da normalidade dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965) e homogeneidade de variâncias (BARTLETT, 1937). Posteriormente foram submetidos à análise de variância (SNEDECOR; COCHRAN, 1948). Para comparação de médias foi utilizado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. Para análise estatística foi utilizado os softwares SISVAR 5.6, GraphPad Prism 9.5 e Rstudio.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Bactérias endofíticas apresentaram respostas significativas no teste de germinação de sementes de soja inoculadas. Exceto biomassa fresca, todas as demais variáveis foram melhoradas. Oito bactérias apresentaram resultados significativos com destaque para os isolados *P. putida* (1.845), *E. asburiae* (1.905), *E. hormaechei* (1.892), *E. asburiae* (1.854) com os maiores resultados para as três variáveis. Destaque para *P. putida* (1.845) que proporcionou incrementos significativos de 35,3%, 50% e 68,4% em porcentagem de germinação, IVG e biomassa seca das plântulas, respectivamente (Figura 1 e 2).

Figura 1. Germinação (%) (A), Índice de velocidade de germinação (B), biomassa fresca (C) e seca (D) de soja (var. Bônus) submetida a inoculação das sementes com bactérias endofíticas.



Nota: Médias seguidas por mesma letra não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Scott-Knott

Figura 2. Germinação de sementes de soja Bônus inoculadas com bactérias endofíticas. (A) *Pseudomonas putida* (1.845); (B) *Enterobacter asburiae* (1.923); (C) *Enterobacter hormaechei* (1.908); (D) *Enterobacter asburiae* (1.905); (E) *Enterobacter asburiae* (1.854); (F) Controle – água.



No teste em casa de vegetação foi observado que alguns isolados de proporcionaram incrementos significativos em variáveis morfoagronômicas como altura, MFPA e MSPA. *P. putida* (1.845), *E. asburiae* (1.854), *B. amyloliquefaciens* (1.867), *E. asburiae* (1.905), *E. asburiae* (1.906), *E. hormaechei* (1.892), isolado (1.848) e isolado (1.850) aumentaram de forma significativa as variáveis mencionadas (Tabela 1 e 2).

Tabela 1. Efeito da inoculação de bactérias endofíticas em soja – variedade bônus nas variáveis altura (cm), comprimento da raiz (cm) e diâmetro do colo (mm) em casa de vegetação.

Bactéria	ALT (cm)	CR (cm)	DC (cm)
<i>Pseudomons putida</i> (1.845)	30,55 a	44,50 a	2,82 a
Isolado (1.848)	34,35 a	66,00 a	2,68 a
Isolado (1.850)	29,65 a	72,00 a	2,68 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.854)	28,92 a	50,33 a	3,20 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (1.867)	28,47 a	72,00 a	2,67 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.892)	27,47 b	39,00 a	2,75 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.899)	23,22 b	53,67 a	2,51 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.905)	32,25 a	60,50 a	2,74 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.906)	25,87 b	45,67 a	3,06 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.908)	26,70 b	49,50 a	2,75 a
<i>Pseudomons putida</i> (1.912)	22,40 b	33,67 a	2,61 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.923)	26,65 b	66,33 a	2,74 a
Controle	23,27 b	69,33 a	2,58 a
CV (%)	15,69	39,62	17,89

Notas: Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Scott-Knott. ALT: altura; CR: comprimento da raiz; DC: diâmetro do colo.

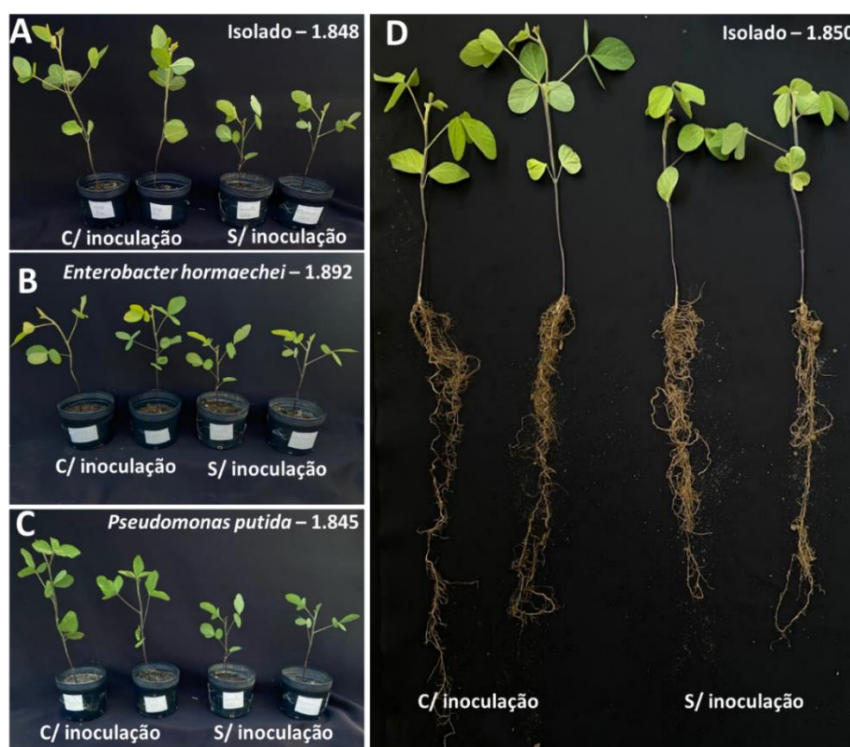
O isolado 1.848 apresentou os maiores resultados para altura, MFPA e MSPA apresentando 34,35 cm (+ 47,6%), 3,25 g (↑ 51,1%) e 1,01 g (↑ 60,3%), respectivamente (Tabela 1 e 2). Em casa de vegetação, os incrementos foram evidenciados em especial as variáveis de parte aérea das plantas, como mostra a Figura 3.

Tabela 2. Efeito da inoculação de bactérias endofíticas em soja – variedade bônus nas massas frescas da parte aérea e raiz em casa de vegetação.

Bactéria	MFPA (g)	MFR (g)	MSPA (g)	MSR (g)
<i>Pseudomons putida</i> (1.845)	3,15 a	1,95 a	0,83 b	0,69 a
Isolado (1.848)	3,25 a	2,70 a	1,01 a	1,21 a
Isolado (1.850)	3,00 a	2,70 a	0,92 a	1,06 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.854)	2,60 b	1,45 a	0,76 b	0,81 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (1.867)	2,55 b	2,00 a	0,85 b	1,06 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.892)	2,30 b	2,05 a	1,14 a	0,96 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.899)	2,25 b	2,90 a	0,68 b	1,00 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.905)	2,80 a	2,80 a	0,88 a	1,10 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.906)	2,80 a	2,50 a	0,89 a	0,97 a
<i>Enterobacter hormaechei</i> (1.908)	2,45 b	1,80 a	0,79 b	0,79 a
<i>Pseudomons putida</i> (1.912)	2,35 b	1,70 a	0,74 b	0,81 a
<i>Enterobacter asburiae</i> (1.923)	2,15 b	1,50 a	0,77 b	0,73 a
Controle	2,15 b	2,15 a	0,63 b	0,79 a
CV (%)	19,98	41,21	19,11	33,87

Notas: Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste de Scott-Knott. MSPA: massa seca da parte aérea; MFR: massa fresca da raiz; MSR: massa seca da raiz; MST: massa seca total.

Figura 3. Soja variedade Bônus inoculada e não inoculada após 30 dias em casa de vegetação. (A) isolado 1.848; (B) *Enterobacter hormaechei* (1.892); (C) *Pseudomons putida* (1.845); (D) isolado (1.850).



5.4 DISCUSSÃO

Os incrementos sob as variáveis de germinação em sementes de soja foram evidenciadas. Tais resultados estão diretamente relacionadas a síntese de hormônios vegetais em concentrações suficientes para induzir a germinação de forma rápida. Ao alcançar o embrião da semente pela regulação hormonal, os isolados aumentam a absorção de água e minerais, proporcionando o aumento na velocidade da germinação e apresentando maiores incrementos nos índices de biomassa em comparação à sementes não inoculadas (CÁSSAN et al., 2009). Esses resultados corroboram com a “hipótese aditiva” que sugere o envolvimento de múltiplos mecanismos das bactérias que afetam o desenvolvimento das plantas, desde a síntese hormonal, até maior absorção de água nutrientes e efeito protetor contra estresses bióticos e abióticos (BASHAN et al., 2004).

Apesar de não haver incrementos na matéria seca da raiz neste trabalho, foi observado aumento de até 60,3% em matéria seca da parte aérea. Este fato pode estar relacionado a uma possível combinação do isolado inoculado à microbiota nativa da parte aérea, consequentemente aumentando a concentração hormonal, em especial os níveis de auxina, a qual é o hormônio sintetizado no ápice da planta desencadeando diferenciação e alongamento celular (MIRANSARI et al., 2016). Além disso, a inoculação tem proporcionado o maior acúmulo de N e P em plantas inoculadas, consequentemente favorecendo a síntese de matéria seca, somando ganhos (SILVA et al., 2020). Processos como fixação biológica de nitrogênio e solubilização do fósforo contribuem para estes incrementos (ZAIDI et al., 2015).

Os resultados evidenciam que os isolados de bactérias endofíticas geram incrementos em casa de vegetação, apresentando potencial a serem aplicadas em campo. Estudos similares testando *Bacillus* sp. e *Burkholderia ambifaria*, oriundos da planta tropical *Paullinia cupana*, foram inoculadas em soja e milho, e apresentaram resultados significativos em relação as massas secas da parte aérea, com aumentos superiores a 47% (BATISTA et al., 2018). Outros trabalhos utilizando isolados de *Bradyrhizobium japonicum* e *B. diazoefficiens*, por exemplo, observaram aumentos de 13,5% de massa seca de raiz e 3,8% em massa seca de parte aérea em experimentos em casa de vegetação (MORETTI et al., 2019).

Pseudomonas putida, *Enterobacter asburiae* e *Enterobacter hormaechei* são importantes espécies promotoras de crescimento vegetal e que proporcionaram incrementos à soja. Estudos corroboram aos achados deste trabalho, revelando que isolados de *P. putida* são capazes de aumentar o desenvolvimento da soja proporcionando ganhos sob germinação, comprimento da parte aérea e raiz e massas fresca e seca das plantas. Tais resultados relacionados a capacidade do isolado em sintetizar sideróforos, ácido indol-3-acético e de solubilizar fosfato (COSTA-GUTIERREZ et al., 2020). Isolados do gênero *Enterobacter* tem sido utilizada na cultura da soja, principalmente para promoção de crescimento vegetal indireto, ou seja, controle biológico. A inoculação de *Enterobacter* contribui significativamente para redução da podridão do caule, ocasionada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (VITORINO et al., 2020).

Estudo com a espécie *E. asburiae*, originalmente isolados da rizosfera de *Manihot esculenta*, evidencia mecanismos de promoção de crescimento vegetal como a produção de ácido indol-3 acético, catecol, sideróforo enterobactina (agente quelante de ferro) e ácido glucônico relacionado à solubilização de fosfato. (JETIYANON et al., 2015). Isolados de *E. hormaechei* tem sido relatado principalmente no controle de estresse salino, sendo capaz de gerar incrementos em plantas de tomate inoculadas sob condições de estresse, melhorando significativamente a biomassa fresca, comprimento da parte aérea e da raiz (RANAWAT et al., 2021).

Apesar de existir relatos na literatura sobre o potencial destes isolados realizarem a promoção de crescimento vegetal, este é o primeiro relato de isolados de bactérias endofíticas da Amazônia sob o desenvolvimento da soja. Estes achados impactam positivamente a produção em solos com baixa disponibilidade de P, como é o caso de 39% dos solos brasileiros. Os solos amazônicos são altamente intemperizados, como os latossolos, onde há predominância de P-inorgânico. Dessa forma, o fósforo encontra-se ligado à fração mineral com alta energia e as formas orgânicas estabilizadas física e quimicamente tornando-o indisponível a planta. Logo, o desenvolvimento de mecanismos de solubilização de fósforo desencadeado por bactéria endofíticas torna este elemento disponível na solução do solo, reduzindo a utilização de fertilizantes fosfatados (SANTOS et al., 2008; EMBRAPA, 2011).

5.5 CONCLUSÕES

Bactérias endofíticas nativas da Amazônia são capazes de promover o crescimento vegetal de soja em casa de vegetação. Parâmetros de germinação, incrementos na matéria fresca e seca foram significativamente melhorados. *Pseudomonas putida* (1.845), *Enterobacter hormaechei* (1.892), isolados 1.848 e 1.850 foram destaque, promovendo os maiores incrementos. Portanto, as bactérias em questão têm potencial para serem utilizadas no desenvolvimento de novas formulações de inoculantes que possam ser integrados ao mercado de bioinsumos. É sugerido também, para trabalhos futuros, testes de co-inoculação em soja com os melhores isolados, afim de verificar possível sinergismo entre as bactérias, e testes de validação em outras culturas que impactam a economia na Amazônia, principalmente em cadeias produtivas da fruticultura e olericultura para fortalecimento da agricultura familiar.

REFERÊNCIAS

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.

AMBONI, E. **Os 4 países que mais produzem alimentos agrícolas.** (2023) Disponível em: <https://societific.com.br/paises-que-mais-produzem-alimentos/#:~:text=O%20Brasil%20foi%20o%20quarto,mais%20produzem%20alimentos%20no%20mundo>. Disponível em: 05 jan. 2023.

ANPII - ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES E IMPORTADORES DE INOCULANTES. **Reunião debate desafios e oportunidades para inoculantes microbianos no Brasil.** Disponível em: <http://www.anpii.org.br/reuniao-debate-desafios-e-oportunidades-para-inoculantes-microbianos-no-brasil/>. Acesso em: 05 Jan. 2023.

ARAÚJO, W. L., LACAVA, P. T., MARCON, J., LIMA, A. O. S., SOBRAL, J. K., PIZZIRANI-KLEINER, A. A., & AZEVEDO, J. L. (2010). **Guia prático: Isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos.** Cop. Luiz de Queiroz, Piracicaba, 167p.

BARTLETT, M. S. Some examples of statistical methods of research in agriculture and applied biology. **Supplement to the Journal of the Royal Statistical Society**, v. 4, n. 2, p. 137-183, 1937.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BATISTA, B. D.; LACAVA, P. T.; FERRARI, A.; TEIXEIRA-SILVA, N. S.; BONATELLI, M. L., TSUI, S., MONDIN, M.; KITAJIMA, E. W.; PEREIRA, J. O.; AZEVEDO, J. L.; QUECINE, M. C. Screening of tropically derived, multi-trait plant growth-promoting rhizobacteria and evaluation of corn and soybean colonization ability. **Microbiological Research**, v. 206, p. 33-42, 2018.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 28-35, 2009.

CHU, T. N.; TRAN, B. T. H.; VAN BUI, L.; HOANG, M. T. T. Plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* PS01 induces salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **BMC Research Notes**, v. 12, n. 1, p. 1-7, 2019.

COSTA-GUTIERREZ, S. B.; RAIMONDO, E. E.; LAMI, M. J.; VINCENT, P. A.; ESPINOSA-URGEL, M.; DE CRISTÓBAL, R. E. Inoculation of *Pseudomonas* mutant strains can improve growth of soybean and corn plants in soils under salt stress. **Rhizosphere**, v. 16, p. 100255, 2020.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja em números (safra 2021/22)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 05 Jan. 2023.

GLICK, B. R. **Beneficial plant-bacterial interactions**. Heidelberg: Springer, 2015.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: DE BRUIJN, F. Ed. **Biological nitrogen fixation**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015. p.1005-1019.

JABBOROVA, D. P.; ENAKIEV, Y. I.; DAVRANOV, K. D.; BEGMATOV, S. A. Effect of co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Pseudomonas putida* on root morph-architecture traits, nodulation and growth of soybean in response to phosphorus supply under hydroponic conditions. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 24, n. 6, 2018.

LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, p. 591-592, 1983.

MARINKOVIĆ, J.; MILJAKOVIĆ, D.; ĐORĐEVIĆ, V.; BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S.; ĆERAN, M.; TINTOR, B.; ROLJEVIĆ, S. Improvement of soybean response to drought stress by inoculation with *Bradyrhizobium* and *Bacillus* strains. **Federation of European Microbiological Societies**. p. 398-398. 2020.

MASCIARELLI, O.; LLANES, A.; LUNA, V. A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. **Microbiological research**, v. 169, n. 7-8, p. 609-615, 2014.

MORETTI, L. G.; CRUSCIOL, C. A.; KURAMAE, E. E.; BOSSOLANI, J. W.; MOREIRA, A.; COSTA, N. R.; ALVES, C. J.; PASCOALOTO, I. M.; RONDINA, A. B. L.; HUNGRIA, M. Effects of growth-promoting bacteria on soybean root activity, plant development, and yield. **Agronomy Journal**, v. 112, n. 1, p. 418-428, 2020.

PANNECOUCQUE, J.; GOORMACHTIGH, S.; CEUSTERS, N.; BODÉ, S.; BOECKX, P.; ROLDÁN-RUIZ, I. Soybean response and profitability upon inoculation and nitrogen fertilisation in Belgium. **European Journal of Agronomy**, v. 132, p. 126390, 2022.

RODRIGUES, T. E.; GAMA, J. R. N. F.; SILVA, J. M. L. da; VALENTE, M. A.; SANTOS, E. da S.; ROLIM, P. A. M. **Caracterização e classificação de solos do município de Senador Guimard, Estado do Acre**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2003. 69 p. (Documentos, 166).

ROSAS, S. B.; ANDRÉS, J. A.; ROVERA, M.; CORREA, N. S. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia–legume symbiosis. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 3502-3505, 2006.

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA, M.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92-99, 2016.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SILVA, F.; BORÉM, A.; SEDIYAMA, T.; CÂMARA, G. **Soja: do plantio à colheita**. Oficina de Textos, 2022.

SILVA, M. A.; NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C. D.; LANNA, A. C.; SILVA, G. B. D.; SILVA, J. F. A. E. Individual and combined growth-promoting microorganisms affect biomass production, gas exchange and nutrient content in soybean plants. **Revista Caatinga**, v. 33, p. 619-632, 2020.

SMIRNOVA, I.; SADANOV, A.; BAIMAKHANOVA, G.; FAIZULINA, E.; TATARKINA, L. Use of a consortium of agronomically important microorganisms for growing soybean (L.) Merr. **The Open Agriculture Journal**, v. 17, n. 1, 2023.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Ames: Iowa State University Press, 1948. 503 p.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W. D.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, p. 748-755, 2005.

VITORINO, L. C.; SILVA, F. O. D.; CRUVINEL, B. G.; BESSA, L. A.; ROSA, M.; SOUCHIE, E. L.; SILVA, F. G. Biocontrol potential of *Sclerotinia sclerotiorum* and physiological changes in soybean in response to *Butia archeri* palm rhizobacteria. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 64, 2020.

ZAIDI, A.; AHMAD, E.; KHAN, M. S.; SAIF, S.; RIZVI, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. **Scientia Horticulturae**, v. 193, p. 231-239, 2015.

ZILLI, J. É.; PACHECO, R. S.; GIANLUPPI, V.; SMIDERLE, O. J. Biological N₂ fixation and yield performance of soybean inoculated with *Bradyrhizobium*. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 119, n. 3, p. 323-336, 2021.

MIRANSARI, M. Soybeans and plant hormones. *In*: Environmental stresses in soybean production. Academic Press, 2016. p. 131-156.

JETIYANON, K. Multiple mechanisms of *Enterobacter asburiae* strain RS83 for plant growth enhancement. **Songklanakar Journal of Science & Technology**, v. 37, n. 1, 2015.