



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**JOEL VIDAL DOS SANTOS**

**RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL ASSOCIADAS**  
**À *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. EM ÁREA SUSCETÍVEL À DESERTIFICAÇÃO DE**  
**IRAUCUBA, CEARÁ**

**FORTALEZA**

**2019**

JOEL VIDAL DOS SANTOS

RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL ASSOCIADAS À  
*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. EM ÁREA SUSCETÍVEL À DESERTIFICAÇÃO DE  
IRAUÇUBA, CEARÁ

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Vânia Maria Maciel Melo

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S235r Santos, Joel Vidal dos.  
Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal associadas à *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. em área suscetível à desertificação de irauçuba, Ceará / Joel Vidal dos Santos. – 2019.  
44 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2019.  
Orientação: Profa. Dra. Vânia Maria Maciel Melo.
1. Bioinoculante. 2. Caatinga. 3. Jurema preta. 4. Rizosfera. I. Título.

CDD 570

---

JOEL VIDAL DOS SANTOS

RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL ASSOCIADAS À  
*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. EM ÁREA SUSCETÍVEL À DESERTIFICAÇÃO DE  
IRAUÇUBA, CEARÁ

Monografia apresentada ao Curso de Ciências  
Biológicas do Departamento de Biologia da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial para a obtenção do título de Bacharel  
em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Vânia Maria Maciel  
Melo

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Vânia Maria Maciel Melo (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Francisca Andréa da Silva Oliveira  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Mariana de Oliveira Bünger  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Alice e Caetano, pela dedicação dada durante todos esses anos para que eu pudesse usufruir da educação que os fora negada.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, Alice e Caetano. Sem vocês nada disso seria possível. Vocês foram os pilares que me apoiaram para que através da educação eu pudesse alcançar meus sonhos. Por essa razão, vocês têm todo meu amor e minha gratidão.

Meu agradecimento a minha orientadora, professora Vânia Melo, que me ajudou a amadurecer cientificamente, e me deu a oportunidade de trabalhar com o que eu aprecio. Os frutos desse trabalho foram plantados graças a sua competência e seu amor pela ciência.

Agradeço também a toda equipe do Lembiotech, por serem pessoas incríveis que sempre tornaram aquele ambiente aconchegante e acolhedor, sou eternamente grato por ter tido a oportunidade de trabalhar com vocês. Quero deixar um agradecimento especial ao team Caatinga, por fazerem parte ativamente da construção desse trabalho. Sem dúvidas sem vocês esse trabalho não seria possível.

Não poderia deixar de agradecer ao Programa de Educação Tutorial – (PET-Biologia UFC), pois além do apoio financeiro cedido através da bolsa, me proporcionou experiências incríveis nos três pilares da universidade, ensino, pesquisa e extensão. A minha formação acadêmica foi extremamente enriquecida graças a esse programa, e por ele sou eternamente grato. Gostaria de agradecer também a todos os “Peruanos” que tive a oportunidade de trabalhar, apesar do curto período, foram 3 gerações que me permitiram a trocar de experiências, e que certamente me ajudaram a amadurecer cientificamente.

Gostaria de deixar um obrigado aos meus colegas de turma, Carol, Letícia, João Gabriel, Daniel, Susy, Lara e Elivânia. Vocês me ajudaram a superar as dificuldades da vida acadêmica nesses mais de 4 anos em que estivemos juntos. O sentimento de gratidão que tenho por vocês não caberia nesses agradecimentos, mas deixo aqui essa pequena homenagem e o meu muito obrigado.

Por fim, não poderia deixar de agradecer aos meus grandes amigos, Guilherme e Denílson. Meu amor pela ciência e toda a motivação para cursar Biologia veio das nossas conversas na praça, saboreando vinho e falando sobre todos os questionamentos que cercam a mente humana. Obrigado por desde sempre me ajudarem a superar as dificuldades, não só da vida acadêmica, mas principalmente da vida social. Espero que nossa amizade perdure até o fim dos tempos, e transpasse esse mundo de amizades líquidas.

“O ser humano não é nada além daquilo que a  
educação faz dele”

Immanuel Kant.

## RESUMO

A Caatinga é um mosaico de florestas sazonalmente secas que cobre grande parte da região Nordeste do Brasil (cerca de 70%) e uma parte do estado de Minas Gerais. O clima nessa região é semiárido, com precipitações anuais menor que 800 mm. Apesar de abrigar uma biodiversidade altamente rica, esse cenário vem mudando graças ao uso inadequado de seus recursos naturais. As consequências dessas ações é o agravamento do processo de desertificação, que culmina com a perda de características físicas, químicas, biológicas e econômicas do solo. No Nordeste esse processo é agravado pelas características intrínsecas da região, fazendo com que a maior parte das Áreas Suscetíveis a Desertificação (ASD), se encontre nesse local. O Ceará possui todo o seu território localizado em uma ASD, e já foram definidos três núcleos graves de desertificação no estado: Irauçuba, no Centro-Norte; Inhamuns e Médio Jaguaribe. Sendo o núcleo de Irauçuba considerado um dos mais graves do país. Estudos foram desenvolvidos com o intuito de mitigar esses efeitos, porém pouco se sabe a respeito da diversidade microbiana e sua importância nesses locais. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo isolar microrganismos presentes na rizosfera de exemplares de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*), e avaliar seu potencial para a promoção do crescimento vegetal, visando uma futura utilização como bioinoculantes. As amostras foram coletadas na fazenda Aroeira, no município de Irauçuba-CE. As plantas foram retiradas de uma área natural e de outra área cercada há 18 anos, que se encontram em processo de regeneração natural. O isolamento de estirpes de bactérias deu origem a criação de duas coleções, contendo 15 bactérias-cada. Os morfotipos selecionados foram avaliados quanto ao potencial de solubilização de fosfato, produção de sideróforos e fixação de nitrogênio. Alguns microrganismos também foram selecionados para identificação molecular através da análise do gene ribossomal 16S. As análises mostraram que o maior número de isolados capazes de solubilizar fosfato estavam presentes na rizosfera da área em recuperação, rendendo 7 estirpes solubilizadoras, contra somente 2 da área natural. Com relação a produção de sideróforos foram obtidas 3 estirpes produtoras a partir dos isolados da área natural, e 7 a partir da área de recuperação natural. Dos 15 isolados da área em recuperação, 12 se mostraram capazes de fixar nitrogênio, enquanto da área natural foram detectadas 7 isolados positivos dentre as 15 estirpes testadas. O isolado mais promissor para a promoção do crescimento vegetal foi identificado como *Klebsiella* sp. Mais estudos são necessários para verificar o potencial desse isolado como bioinoculante, assim como a criação de estratégias que permitam a sua disseminação a campo.

**Palavras-chave:** Bioinoculante. Caatinga. Jurema preta. Rizosfera.

## ABSTRACT

Caatinga is a mosaic of seasonally dry forests that covers much of the Northeast region of Brazil (about 70%) and a part of the state of Minas Gerais. The climate in this region is semi-arid, with annual rainfall less than 800 mm. Despite housing a highly rich biodiversity, this scenario has been changing due to the misuse of its natural resources. The consequences of these actions are the aggravation of the desertification process, which culminates in the loss of physical, chemical, biological and economic characteristics of the soil. In the Northeast this process is aggravated by the intrinsic characteristics of the region, making most of the Desertification Susceptible Areas (DSA) in this area. The entire territory of Ceará is located in an DSA, and three serious desertification nuclei have already been defined in the state: Irauçuba, in the Center-North; Inhamuns e Médio Jaguaribe. Being the core of Irauçuba considered one of the most serious in the country. Studies have been developed to mitigate these effects, but little is known about microbial diversity and its importance in these locations. Thus, the present study aimed to isolate microorganisms present in the rhizosphere of Jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) specimens, and to evaluate their potential for the promotion of plant growth, aiming at future use as bioinoculants. The samples were collected at Fazenda Aroeira, in the municipality of Irauçuba-CE. The plants were removed from a natural area and another area surrounded for 18 years, which are in the process of natural regeneration. Isolation of bacterial strains led to the creation of two collections containing 15 bacteria each. The selected morphotypes were evaluated for phosphate solubilization potential, siderophores production and nitrogen fixation. Some microorganisms were also selected for molecular identification through 16S ribosomal gene analysis. The analyzes showed that the largest number of isolates capable of solubilizing phosphate were present in the rhizosphere of the recovering area, yielding 7 solubilizing strains, compared to only 2 of the natural area. Regarding the production of siderophores, 3 producing strains were obtained from the isolates of the natural area, and 7 from the natural recovery area. Of the 15 isolates from the recovering area, 12 were able to fix nitrogen, while from the natural area 7 positive isolates were detected among the 15 strains tested. The most promising isolate for plant growth promotion was identified as *Klebsiella* sp. Further studies are needed to verify the potential of this isolate as a bioinoculant, as well as the creation of strategies that allow its dissemination in the field.

**Keywords:** Bioinoculant. Caatinga. Jurema preta. Rhizosphere.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Imagem de satélite (a esquerda) e fotografia (a direita) de uma das áreas de recuperação natural, na fazenda aroeira em Irauçuba, Ceará. ....	23
Figura 2 - Imagem de satélite (a esquerda) e fotografia (direita) de uma das áreas de vegetação nativa, na fazenda aroeira em Irauçuba, Ceará. ....	24
Figura 3 - Morfotipos isolados da rizosfera de <i>Mimosa tenuiflora</i> em área de vegetação natural da caatinga .....	29
Figura 4 - Morfotipos isolados da rizosfera de <i>Mimosa tenuiflora</i> em área de recuperação natural .....	29
Figura 5 - Percentual de microrganismos solubilizadores de fosfato para as áreas estudadas.	30
Figura 6 – Índice de solubilização de fosfato dos morfotipos .....	30
Figura 7 – Total de bactérias avaliadas da coleção JurEIRA e seu desempenho nos testes realizados .....	32
Figura 8 - Total de bactérias avaliadas da coleção JurNIRA e seu desempenho nos testes realizados .....	32

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Número de organismos testados e positivos para produção de sideróforos.....	31
--	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Caatinga e desertificação .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2 Importância da <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir. para restauração de áreas degradadas .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3 Rizosfera .....</b>	<b>18</b>
<b>2.4 Ações de combate à desertificação e papel dos microrganismos na fertilidade dos solos .....</b>	<b>19</b>
<b>2.5 Rizobactérias Promotoras do Crescimento Vegetal.....</b>	<b>20</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Gerais.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>22</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>23</b>
<b>4.1 Coleta de rizosferas e isolamento de rizobactérias .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2 Teste de solubilização de fosfato .....</b>	<b>25</b>
<b>4.3 Teste de produção de sideróforos .....</b>	<b>25</b>
<b>4.4 Avaliação de isolados fixadores de nitrogênio .....</b>	<b>26</b>
<b>4.5 Extração do DNA bacteriano e amplificação do gene ribossomal 16S .....</b>	<b>26</b>
<b>4.6 Purificação e precipitação do DNA .....</b>	<b>27</b>
<b>4.7 Análise das sequencias e identificação molecular .....</b>	<b>28</b>
<b>4.8 Análise dos dados.....</b>	<b>28</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>29</b>
<b>5.1 Isolamento dos morfotipos.....</b>	<b>29</b>
<b>5.2 Teste de solubilização de fosfato .....</b>	<b>30</b>
<b>5.3 Teste de produção de sideróforos .....</b>	<b>31</b>
<b>5.4 Avaliação de isolados fixadores de nitrogênio. ....</b>	<b>31</b>

<b>5.5 Identificação molecular .....</b>	<b>31</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>33</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Caatinga é uma formação vegetal que ocorre predominantemente no nordeste brasileiro (LEAL *et al.*, 2005). Esse mosaico de vegetação compreende a região semiárida do Brasil, caracterizada por possuir médias de pluviometria anuais entre 270-800 mm (AB'SABER, 2003). A Caatinga possui uma flora altamente diversificada e rica, resultante de suas variações fito-ecológicas, contudo esse cenário vem mudando devido ao uso inadequado de seus recursos naturais para atividades econômicas (AQUINO *et al.*, 2018).

Dentre as atividades que mais degradam a caatinga podemos citar a agricultura e pecuária, extração de argila em solos aluviais e remoção de madeira para produção de lenha e carvão (FERREIRA *et al.*, 2018). Essas ações antrópicas ocasionam mudanças nos processos biofísicos como a erosão dos solos, elevando o déficit hídrico, causando mudanças no microclima local, reduzindo a biodiversidade e conseqüentemente aumentando a susceptibilidade dessas áreas a desertificação (TRIGUEIRO; OLIVEIRA; BEZERRA, 2009).

A desertificação é o fenômeno que representa a degradação do solo em áreas subúmidas, semiáridas e áridas que resultam de diversos motivos, como as mudanças climáticas e ações antrópicas (BRASIL, 1999). Fatores como a erosão do solo, o assoreamento e a ausência permanente de cobertura vegetal estão sendo usados como parâmetros para indicar um estado de degradação (LE HOUEROU, 2006).

Segundo Ferreira *et al* (2018), as terras do Brasil mais atingidas pela desertificação estão situadas nas regiões de Gilbués (PI), Irauçuba (CE), Seridó (RN) e Cabrobó (PE), conhecidas como Hotspots de desertificação. No município de Irauçuba, o sobrepastejo de animais, aliado ao uso impróprio de terras para agricultura e a má gestão de recursos hídricos são as principais causas da degradação de terras locais (FERREIRA, 2018).

Ações científicas vem relantando os impactos da desertificação na qualidade de vida das pessoas, bem como as intervenções governamentais que estão sendo realizadas com o intuito de mitigar esse processo (SILVA, 2003; CAMPOS, 2014; CUNHA E PAULINHO, 2014). No entanto, os microrganismos presentes nessas áreas foram pouco explorados quanto ao seu potencial para biorremediação, sendo estas peças chaves em importantes processos de ciclagem de nutrientes edáficos e promoção do crescimento de plantas (GARBEVA, 2004).

As rizobactérias fazem parte de um seletor grupo de microrganismos que vivem associados intimamente com vegetais, colonizando suas raízes e proporcionando o desenvolvimento do seu hospedeiro (DIAS, 2016). Essa promoção está ligada a capacidade desse grupo em atuar disponibilizando nutrientes que se encontram escassos no solo, como o

fosfóro e o ferro, mas também ocorre pelo auxílio prestado na defesa da planta contra microrganismos maléficos (LEE *et al.*, 2012; LAKSHMANAN *et al.*, 2015). O potencial desses organismos vem sendo amplamente empregados no cultivo de espécies vegetais (CHEN *et al.*, 2000; FREITAS *et al.*, 2003; SILVEIRA *et al.*, 1995).

Dessa forma, é relevante a identificação desses microrganismos para futuras aplicações como biofertilizantes visando auxiliar na recuperação de áreas degradadas da Caatinga.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Caatinga e desertificação

A Caatinga é um mosaico de arbustos espinhosos e florestas sazonalmente secas que cobre grande parte da região Nordeste do Brasil e uma parte do estado de Minas Gerais (LEAL *et al.*, 2005), e a nível nacional ocupa uma área equivalente a 11% do território do país (SCHOBER, 2002). Além disso, é oficialmente denominada como uma Floresta Tropical Sazonalmente Seca (KORTZ, 2012; OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2006; PENNINGTON *et al.*, 2000; PRADO, 2000). A maioria das formações da caatinga ocorrem sob um clima quente, semi-árido, com precipitação anual de 270-800 mm, concentrada em 3 a 5 meses do ano (AB'SABER, 2003). As áreas de floresta encontram-se restritas à parcela de solos mais úmidos que percorrem as encostas e topos das chapadas e serras com alturas superiores a 500 metros e chuvas orográficas acima de 1200 mm, sendo denominadas de brejos de altitude (ANDRADE-LIMA, 1982; PRADO, 2003).

O conceito fitogeográfico da Caatinga ainda divide essa vegetação em agreste e sertão. Segundo Leal *et al* (2003) agreste é a denominação dada à pequena mancha de vegetação que percorre desde os limites da serra do mar a leste, onde as florestas são bastante numerosas, até os interiores mais secos a oeste. Seu formato é alongado com uma direção geral norte-sul, e compreende desde o Rio Grande do Norte até a Bahia central, região de transição onde é sucedida pela mata de cipó (LEAL *et al.*, 2003). O agreste possui uma precipitação anual mais abundante (até 1000 mm) e é menos propício às secas prolongadas devido a umidade recebida pelos ventos do Sudeste (LEAL *et al.*, 2003). De acordo com Kortz (2012) o sertão é uma área mais seca, que possui uma vegetação baixa e solo raso ou pedregoso, ocorrendo principalmente no interior do Nordeste.

Apesar de abrigar espécies de fauna e flora endêmicas, não encontradas em nenhum outro lugar do planeta, a Caatinga tem sofrido danos irreversíveis por conta de atividades como o extrativismo, pecuária, agricultura em larga escala e a extração madeireira (SCHOBER, 2002). Myers *et al* (2000) relata que as alterações causadas pelo desmatamento colocam a Caatinga como uma das formações vegetais mais degradadas do Brasil. Essas alterações, além de afetarem diretamente as espécies nativas, eliminam processos ecológicos chaves e levam a formação de extensos núcleos de desertificação na região (LEAL *et al.*, 2003).

De acordo com os critérios estabelecidos na Convenção das Nações Unidas para o Combate à Desertificação e Mitigação dos Efeitos das Secas, a desertificação é o fenômeno responsável pela degradação das terras de zonas áridas, semiáridas e subúmidas secas, que resulta de vários fatores, como as mudanças climáticas e as atividades antrópicas (BRASIL, 1999). Esse processo inicia-se com modificações que diminuem a presença de cobertura vegetal por períodos prolongados, aumentando a taxa de erosão e deteriorando as propriedades físicas, químicas, biológicas e econômicas do solo (CCD, 1995).

Segundo Sardinha (2008) as áreas afetadas pela desertificação estão localizadas em todo o globo, exceto o continente da antártica, causando impactos diretos na vida de bilhões de pessoas. As zonas áridas do mundo são as mais afetadas por esse fenômeno, compreendendo cerca de 41% da extensão territorial do planeta e, atingindo quase 2 bilhões de pessoas. A expansão das áreas degradadas pela desertificação e a diminuição dos serviços ambientais ocasionados pelo uso exaustivo dos recursos, juntamente com a incapacidade de gerar tecnologias adequadas para mitigar esse processo, coloca a desertificação como um dos maiores problemas ambientais do planeta (SARDINHA, 2008).

No Brasil, a maior parte das Áreas Suscetíveis à Desertificação (ASD), se encontram nas regiões semiáridas e subúmidas do Nordeste, e em termos de extensão territorial ocupa uma área aproximada de 181.000 km<sup>2</sup>, o que equivale a dizer que 20% da região semiárida do Nordeste se encontra em processo de desertificação (ACCIOLY, 2010). Dentre as atividades antrópicas que contribuem para o avanço da desertificação nos ecossistemas semiáridos podemos citar: o plantio exaustivo, desgastando o solo; o sobrepastejo por bovinos, ovinos e caprinos, que impede a recuperação da vegetação; o desmatamento, que retira a cobertura vegetal, expondo o solo à erosão, e a prática de irrigação em terras inadequadas, que promovem diversos problemas, como a salinização dos solos (BEZERRA SA; SILVA SÁ, 2007).

O estado do Ceará possui todo seu território localizado em uma ASD, já sendo reconhecidos três núcleos com níveis graves de ocorrência, sendo eles: Irauçuba, no Centro-Norte; Inhamuns e Médio Jaguaribe. O município de Irauçuba representa ainda um dos núcleos de desertificação mais graves do país (CGEE, 2016). Nesse contexto, a busca por soluções para o problema da desertificação no estado é fundamental para a restauração da flora e da biodiversidade associada. Além de gerar melhorias na qualidade de vida das comunidades que vivem em seu entorno.

## 2.2 Importância da *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. para restauração de áreas degradadas

A *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir, conhecida popularmente como jurema preta, é uma planta pertencente à família Fabaceae que está amplamente distribuída pelas formações vegetais da Caatinga (ARRUDA, 2014). De acordo com Arruda (2014) essa espécie possui adaptações ao clima semiárido, como resistência a solos degradados e com baixo teor de nitrogênio, o que permite sua vasta distribuição nos estados do Nordeste brasileiro.

*Mimosa tenuiflora* pode atuar como indicadora do processo de sucessão secundária ou progressiva de recuperação, principalmente quando esta aparenta ser a única espécie lenhosa no local, contudo, a tendência ao longo do processo é de diminuição drástica no número de indivíduos (ARAÚJO FILHO; CARVALHO, 1996). Essa árvore pode ser utilizada para diversas finalidades, como a produção de estacas e lenha (PEREIRA FILHO *et al.*, 2005) e possui a capacidade de colonizar abundantemente sítios desfavoráveis, incluindo aqueles com severo déficit hídrico (BAKKE *et al.*, 2006).

O uso da *M.tenuiflora* para a recuperação de áreas degradadas da Caatinga constitui uma ferramenta poderosa frente a desertificação, visto que essa planta possui o crescimento rápido, podendo atingir até 5,5 metros de altura e 30 cm de diâmetro (LORENZI, 1998), e é capaz de recuperar o solo devido à associação entre fungos micorrizos e suas raízes, o que auxilia na captação de N atmosférico (DINIZ, 2006; QUEIROZ, 2009). Essas características explicam sua presença em grandes áreas antropizadas de Caatinga (CLEVELAND *et al.*, 1999).

O emprego de espécies pioneiras como a jurema preta para o reflorestamento de áreas degradadas possibilita o estabelecimento de outras espécies, a estabilização e o aumento da atividade biológica do solo (CHAVES *et al.*, 2006), assim, esta planta possui papel central na manutenção das comunidades vegetais, bem como no funcionamento dos ecossistemas.

## 2.3 Rizosfera

A rizosfera é a parcela do solo que recebe influência direta das raízes de plantas superiores e, por ser um ambiente altamente dinâmico, apresenta atividade microbiana em níveis elevados (MELO; AZEVEDO, 2008). De acordo com Melo e Azevedo (2008), os organismos vegetais liberam compostos pelas raízes que atuam na modulação das comunidades microbianas, tais como células mortas, mucilagens, exsudatos, vitaminas e

polissacarídeos. Essa interação permite aos organismos vegetais promoverem efeitos diretos sobre a atividade dos microrganismos presentes na rizosfera, fazendo com que estes auxiliem no crescimento da planta hospedeira.

Por conta da enorme abundância e diversidade de compostos orgânicos depositados na rizosfera, a heterogeneidade de microrganismos presente nestes ambientes pode exceder 1000 vezes aquela encontrada em solos não rizosféricos (MARCHETT; BARP, 2015). Os componentes biológicos do solo e das rizosferas proporcionam alternativas viáveis para a criação de novas tecnologias que visem a substituição dos sistemas agrícolas tradicionais, que são em grande parte baseados na utilização de fertilizantes químicos e agrotóxicos (DÖBEREINER, 1990).

#### **2.4 Ações de combate à desertificação e papel dos microrganismos na fertilidade dos solos**

A preocupação das autoridades com o avanço da desertificação gerou diversas ações políticas e científicas com o intuito de mitigar os efeitos desse processo (CGEE, 2016). Almeida *et al* (2017), relatam a técnica de pousio como uma das alternativas para diminuir o efeito da desertificação em áreas degradadas, além disso, também é descrito na literatura a utilização de serapilheira como uma técnica natural de regeneração dos solos (ANDRADE; TAVARES; COUTINHO, 2003). Apesar dos inúmeros trabalhos científicos realizado com o intuito de mitigar o processo de degradação das terras, poucos se debruçaram sobre a estrutura das comunidades microbianas destes locais. Para Garbeva *et al* (2004), os microrganismos são importantes agentes em processos ecológicos como a ciclagem de nutrientes, a fertilização dos solos e o desenvolvimento vegetal. Dessa forma, o conhecimento sobre as estruturas das comunidades microbianas pode ser uma importante ferramenta para o manejo dessas áreas.

Dentre as funções primordiais que os microrganismos podem exercer está a capacidade de disponibilizar o fósforo do solo para as plantas, uma vez que essas não conseguem captar esse nutriente quando está na forma de fosfatos inorgânicos insolúveis (MARRA, 2012). O fósforo é um elemento essencial a vários processos metabólicos das plantas, incluindo a transferência de energia, a respiração celular e a fotossíntese (GRANT *et al.*, 2001). Devido às características intrínsecas do solo, em regiões tropicais a disponibilidade de fósforo é limitada (NOVAIS *et al.*, 2007), ficando a cargo dos microrganismos presentes nos solos e nas raízes das plantas transformar os compostos fosfatados em compostos assimiláveis para as espécies vegetais.

De acordo com Parize e colaboradores (2018), outra atribuição fundamental realizada pelos microrganismos está na capacidade destes em produzir sideróforos, que são moléculas de baixo peso molecular quelantes de íons férricos. O ferro constitui um elemento essencial para o desenvolvimento de microrganismos e plantas. Em bactérias, esse nutriente é utilizado como co-fator de diversas enzimas, dentre as quais está a nitrogenase, enzima que atua diretamente no processo de fixação biológica de nitrogênio (PARIZE *et al.*, 2018). Apesar de ser encontrado com facilidade na maioria dos solos, grande parte do ferro presente nesses ambientes encontra-se no estado férrico, sendo indisponível para a utilização de microrganismos e plantas. Neste contexto, a produção de sideróforos por células bacterianas ajuda na absorção desse mineral em solos degradados e promove o crescimento vegetal. A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) realizada por microrganismos, também constitui um processo chave para o desenvolvimento vegetal, visto que este é o principal meio de entrada desse nutriente nos ecossistemas (CLEVELAND *et al.*, 2010). Assim, organismos capazes de fixar nitrogênio são essenciais tanto para o crescimento de plantas, quanto para a transferência desse nutriente ao longo da cadeia trófica.

## **2.5 Rizobactérias Promotoras do Crescimento Vegetal**

Diversos grupos de microrganismos estão sendo descritos como cruciais para a manutenção da qualidade do solo e saúde das plantas, por atuarem na remoção de nutrientes edáficos que se encontram na maior parte das vezes indisponíveis para a utilização vegetal (DIAS, 2016). As rizobactérias (que recebem esse nome por viverem associadas às rizosferas de plantas), se destacam dentre os grupos de microrganismos que desempenham essas funções (BAKKER *et al.*, 2013). Esses organismos auxiliam de maneira positiva o desenvolvimento vegetal e, dessa forma, são denominadas Rizobactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (PGPR) (KLOEPPER *et al.*, 1980). As PGPR são ótimas competidoras de recursos e habitats, permitindo com que esses organismos colonizem com eficiência as raízes de plantas (REDDY, 2013; AHEMAD; KIBRET, 2014).

A promoção do crescimento vegetal realizado pelas PGPR pode ocorrer de maneira direta ou indireta. O método direto consiste no fornecimento de compostos produzidos por estas bactérias às plantas, como é o caso de alguns fitormônios (GLICK, 1995); ou ainda quando estas facilitam a absorção de nutrientes pelos vegetais (AHEMAD; KIBRET, 2014; REDDY, 2013). São exemplos de mecanismos diretos para a promoção do crescimento por PGPR, a fixação biológica de nitrogênio e a solubilização de fosfato, nutrientes

que se encontram indisponíveis no solo para a utilização vegetal (AHN *et al.*, 2011; NIHORIMBERE *et al.*, 2011; JOG *et al.*, 2014; MEHTA *et al.*, 2014; RAMÍREZ *et al.*, 2015). Outro fator crucial é a produção de sideróforos, moléculas quelantes de ferro que atuam diretamente na manutenção da saúde das plantas, pois impedem a captação desse nutriente por eventuais microrganismos patogênicos, além de reduzirem o estresse vegetal oriundos de solos com altas taxas de metais pesados (LEE *et al.*, 2012; LAKSHMANAN *et al.*, 2015).

A indução indireta de crescimento pelas PGPR ocorre quando estas mitigam ou inibem completamente os efeitos maléficos causados por organismos fitopatogênicos (GLICK, 1995). Isso acontece devido a capacidade dos microrganismos em produzir moléculas com propriedades antibióticas ou antifúngicas (BHATTACHARYYA; JHA, 2012; LIN *et al.*, 2014). As bactérias podem ainda agir interferindo na sinalização de *quórum sensing* (QS), impossibilitando a formação de biofilme de microrganismos fitopatogênicos presentes na rizosfera (REDDY, 2014; BHATTACHARYYA; JHA, 2012); como também produzir Compostos Orgânicos Voláteis (VOC), moléculas leves, contendo carbono que volatilizam rapidamente à temperatura e pressão normais e podem se disseminar através da atmosfera e do solo, possibilitando a indução de resistência contra patógenos biotróficos e necrotróficos (BITAS *et al.*, 2013; FARAG *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013).

Para Beneduzi *et al* (2012), os benefícios das rizobactérias constituem uma alternativa promissora para a agricultura sustentável. A aplicabilidade dessas interações foi averiguada em plantas produtoras de diversos alimentos, como o trigo, a soja e o tomate (GRAY; SMITH, 2005). Já sendo relatado o uso comercial desse grupo na agricultura (PODILE; KISHORE, 2006).

Nesse contexto, as rizobactérias podem se tornar ferramentas poderosas visando a recuperação de áreas degradadas da Caatinga, haja vista que esses organismos são importantes tanto para o desenvolvimento vegetal, como para a fertilidade do solo. Assim, isolar e entender o papel dos microrganismos associados à rizosferas de plantas nativas do semiárido é imprescindível para a produção de potenciais biofertilizantes que tenham por finalidade recuperar solos degradados.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Gerais

Analisar o perfil de microrganismos isolados da rizosfera de plantas de áreas naturais e áreas em processo de recuperação da Caatinga, com o intuito de comparar e selecionar estirpes promotoras do crescimento vegetal com potencial para atuarem como biofertilizantes.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Isolar microrganismos presentes na rizosfera de *Mimosa tenuiflora*, jurema preta, de áreas nativas e áreas em processo de recuperação no município de Irauçuba – CE;
- Comparar através de ensaios *in vitro* potenciais estirpes promotoras do crescimento vegetal;
- Realizar identificação molecular de isolados selecionados.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Coleta de rizosferas e isolamento de rizobactérias

A coleta de rizosferas de *Mimosa tenuiflora* foi realizada no núcleo de desertificação do município de Irauçuba, localizado na região norte do estado do Ceará, a cerca de 146 km da capital Fortaleza, sendo suas coordenadas geográficas: S 3° 44' 46" Sul e 39° 47' 00" Oeste, no mês de maio de 2018. As raízes foram extraídas de plantas crescidas dentro de áreas de 0,25 ha, cercadas, em processo de recuperação natural há 18 anos (Figura 1). O segundo sítio de coleta localiza-se a cerca de 1km de distância da parcela, sendo considerada uma área de vegetação natural de caatinga, ou onde o processo de desertificação ainda não se instalou (Figura 2). Dois exemplares de plantas juvenis de jurema preta foram coletadas em cada área com o auxílio de pás de mãos, tomando-se o cuidado para não danificar nenhuma parte da raiz no processo de retirada do solo.

Figura 1- Imagem de satélite (a esquerda) e fotografia (a direita) de uma das áreas de recuperação natural, na fazenda aroeira em Irauçuba, Ceará.



Fonte: Google Earth. A seta branca indica o local onde foi realizada a coleta das plantas para a área de recuperação.

Figura 2 - Imagem de satélite (a esquerda) e fotografia (direita) de uma das áreas de vegetação nativa, na fazenda aroeira em Irauçuba, Ceará.



Fonte: Google Earth. A seta branca indica o local onde foi realizada a coleta das plantas para a área natural.

Após a coleta, o material foi levado ao laboratório e as raízes das plantas foram extraídas, lavadas em água corrente para retirada do solo e colocadas em Erlenmeyers contendo solução 0,9% de NaCl, na proporção de 1:10 (m:v). Os frascos foram colocados em agitador orbital a 150 rpm por 24 h, para que as bactérias firmemente aderidas pudessem se desprender das raízes. Em seguida, uma alíquota das suspensões foi inoculada em placas de meio ATGE diluído 10 vezes da concentração padrão (15 g de ágar, 0,5 g de triptona, 0,25 g de extrato de levedura, e 0,1 g de glicose, para 1 L de meio). As placas foram incubadas a 37 °C por até 48 h e após o crescimento as colônias com características distintas foram selecionadas para preparação de culturas puras. As culturas puras foram transferidas para tubos criogênicos contendo 600 µL de caldo TGE diluído 10x da sua concentração padrão. Após incubação a 37 °C por 48 h as culturas receberam 400 µL de glicerol estéril 50%, de modo que a concentração final de glicerol fosse de 20%. As culturas foram então guardadas em *freezer* a - 80 °C e foram dadas denominações genéricas a cada morfotipo isolado, tais como: JurNIRA 01 (rizosfera de jurema da área natural, morfotipo 1); JurEIRA 01 (rizosfera de jurema da área de recuperação, morfotipo 1).

## 4.2 Teste de solubilização de fosfato

Para evidenciar o potencial dos isolados bacterianos em solubilizar o fosfato, foi realizado o teste baseado no método de Sylvester-Bradley e colaboradores (1982). Neste ensaio é utilizado o meio GL, composto de 10 g de glicose, 2 g de extrato de levedura e 15 g de ágar para cada litro. Após esterilização a 121 °C por 15 min, são adicionados 50 mL de uma solução estéril de  $K_2HPO_4$  100 g/L e 100 mL de  $CaCl_2$  100 g/L, ajustando-se o pH para 6,8, com o intuito de se formar fosfato de cálcio ( $CaHPO_4$ ) precipitado (SPEROTTO, 2014).

Para esse ensaio as bactérias foram previamente crescidas em meio ATGE diluído, e posteriormente transferidas para a placa de GL. As bactérias foram então incubadas em estufa a 37 °C durante 5 dias. Decorrido esse prazo a identificação das bactérias positivas foi percebida a partir da visualização de um halo de solubilização translúcido formado ao redor da colônia. O diâmetro dos halos de solubilização e das colônias foram medidos com uma régua a fim de determinar o Índice de Solubilização (IS), utilizando a seguinte fórmula:

$$IS = \text{diâmetro do halo (mm)} / \text{diâmetro da colônia (mm)}$$

E com base nesses índices de solubilização, as bactérias foram classificadas como estirpes com baixa ( $IS < 2$ ), média ( $2 \leq IS < 4$ ) e alta solubilização ( $IS > 4$ ) (HARA; OLIVEIRA, 2004; JUNIOR *et al.*, 2010).

## 4.3 Teste de produção de sideróforos

Com o intuito de revelar a capacidade dos isolados em produzir sideróforos, foi realizado o teste com base no protocolo de Sperotto (2014) e Schwyn e Neilands (1987). O meio de cultivo utilizado para o teste é composto por dois componentes, sendo um meio base (Agar King) e um corante que posteriormente é adicionado (Cromazurol ou CAS). A concentração do corante em relação ao meio foi ajustada para 20% (ou 200 ml para 1L). As vidrarias e materiais utilizados para a preparação do meio foram previamente lavadas com uma solução de HCl 6 mM, para que qualquer traço de ferro fosse removido.

O meio base foi preparado a partir dos seguintes reagentes: 3 g de glicerol; 4 g de peptona; 0,23 g de  $K_2HPO_4$ ; 0,3 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  e 15 g de ágar. Após isso, foi adicionado aos reagentes água Milli-Q até completar o volume de 1L. O pH foi então ajustado para 6,8 e o meio autoclavado por 121°C por 15 minutos.

Para a preparação do corante foram utilizadas 4 soluções distintas, sendo elas: 15 mL de solução de  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  1mM + HCl 10 mM; 75 mL de solução de azul de cromazurol

(CAS) 2 mM; 60 mL de solução HDTMA 10 mM e, aproximadamente, 50 mL de solução tampão PIPES com pH ajustado para 5,6. O processo de esterilização do corante se deu através da utilização de membrana de filtração de 0,2 µm. Posteriormente o corante foi armazenado em recipiente protegido da luz.

Em seguida o corante foi adicionado ao meio base estéril. Para tanto, foi necessário ajustar a temperatura do Agar King em banho-maria para aproximadamente 60 °C. O meio então foi vertido em placas de Petri e protegidos da luz.

Para a realização desse teste os isolados foram previamente crescidos em Caldo TGE 10x diluído da sua concentração padrão. 20 µl das culturas, foram transferidos para a placa contendo o meio-teste. As placas foram incubadas em estufa a 37 °C durante 5 dias, decorrido esse prazo a avaliação das bactérias positivas para o teste foi percebida através da visualização de um halo rosa ou alaranjado ao redor das colônias.

#### **4.4 Avaliação de isolados fixadores de nitrogênio**

Para avaliação do potencial dos isolados em fixar nitrogênio, foi realizado um teste com modificações baseado no método de Döbereiner *et al* (1995). O meio utilizado para a execução do experimento foi o LGI-P semi-sólido sem nitrogênio. Para a preparação do meio de cultivo foram utilizados os seguintes reagentes: 0,6 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 100 g de Sacarose; 0,2 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,2 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,01 g de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,02 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,002 g de  $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 2,5 ml de Azul de Bromotimol (0,5%) e 1,8 g de ágar puro para 1 litro de meio. Os componentes foram pesados e diluídos em água destilada, exceto o azul de Bromotimol e o ágar, que foram adicionados após o ajuste do pH para 5,5 com ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Em seguida, o meio foi dissolvido em banho maria a 60 °C e após homogeneização foram distribuídos em tubos de ensaio contendo 3 ml cada. Por fim, os tubos foram autoclavados a 121°C durante 15 minutos. Uma vez que o meio não possui fonte de nitrogênio, a avaliação das bactérias positivas para o teste foi verificada a partir do crescimento dos isolados no meio, que significou a utilização do nitrogênio presente no ar do tubo de ensaio.

#### **4.5 Extração do DNA bacteriano e amplificação do gene ribossomal 16S**

Dentre os morfotipos isolados foram selecionadas estirpes para a identificação molecular. Para a extração de DNA, foi utilizado o protocolo de termólise adaptado de SA et

al. (2013). A princípio os microrganismos foram cultivados em ATGE diluído 10x. Após o crescimento, diversas colônias de cada isolado foram transferidas para *ependorfs* de 1,5 mL contendo 400 µL de água ultrapura estéril e homogeneizadas com o auxílio de *vortex*. Posteriormente, estes foram colocados em banho seco a 99 °C durante 10 minutos e rapidamente levados a *freezer* – 80°C durante 5 minutos, com o intuito de romper as células para a liberação do DNA. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 12 000 rpm durante 5 minutos com a temperatura ajustada para 4 °C. Por fim, aproximadamente 300 µL do sobrenadante foram transferidos para novos *ependorfs* e a qualidade do DNA foi medida através da leitura no Nanodrop e ajustada para 10 ng/µL.

Para a amplificação do gene 16S do RNAr foram utilizados os primers 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG – 3') e 1525R (5'- AAGGAGGTGATCCAGCC – 3') (WAWRIK *et al.*, 2005; WEISBURG *et al.*, 1991). A amplificação foi realizada em termociclador (*Thermo Scientific*) nos seguintes parâmetros: 95 °C por 2 min, seguido de 30 ciclos de 95 °C por 1 min, 55 °C por 1 min, 72 °C por 1 min 30 segs. O volume final para cada reação foi de 75 µL, sendo utilizados a seguinte concentração para cada reagente: 0.5 µM de cada iniciador, 1X de tampão GoTaq (Promega, EUA), 3.0 mM de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>), 0.2 mM de cada dNTP, 1U de polimerase, 30 ng de DNA e água para PCR suficiente para completar os 75 µL.

O resultado da amplificação e o tamanho das sequências de interesse foram verificados em gel de agarose 1% (m/v), corados por SYBR™ safe e corridos em tampão TAE 0,5 X (200 mM de Tris base, 100 mM de ácido acético glacial, 5 mM de EDTA e pH 8,0). A amplificação pode ser confirmada pela presença das bandas na região aproximada de 1500 pb com o auxílio do marcador de 1kb, após a exposição do gel a um fotodocumentador ultravioleta.

#### 4.6 Purificação e precipitação do DNA

Após a confirmação da amplificação por PCR, as amostras foram diluídas para a concentração de 0,3 M com o auxílio de uma solução 3 M de acetato de potássio (pH 5,5) e adicionando 2 vezes o volume total da solução de etanol 100%. Em seguida, os tubos foram homogeneizados por inversão e refrigeradas no *freezer* – 80 °C por 30 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm a 4 °C por 15 minutos e o sobrenadante foi desprezado. O *pellet* resultante da centrifugação foi ressuspendido utilizando etanol 70% gelado e novamente centrifugado a 14.000 rpm a 4 °C por 5 minutos. Após isso, o

sobrenadante foi descartado e o *pellet* formado foi seco em thermomix a 36 °C por 30 minutos. Logo após a evaporação de todo o álcool, o DNA purificado foi ressuspenso em 30 µL de água ultrapura livre de DNAsas e RNAsas. Por fim, a qualidade de DNA foi verificada por quantificação em Nanodrop, avaliando as relações 260/230 nm e 260/280 nm, além da concentração final superior a 50 ng/µL.

#### **4.7 Análise das sequências e identificação molecular**

O sequenciamento do DNA foi realizado pela empresa MacroGen ([www.macrogen.com](http://www.macrogen.com)), através do método de SANGER, empregando os iniciadores 518F e 800R. O tratamento e edição das sequências se deu por meio do software Geneious R10 ([www.geneious.com/](http://www.geneious.com/)). Após tratadas, a sequência contig obtida de cada amostra foi usada para a identificação molecular por meio da ferramenta de busca e alinhamento local BLAST utilizando o banco de dados do NCBI (ALTSCHUL, 1990). A espécie que obteve a maior identidade, cobertura e o maior número de hits com a sequência contig do isolado foram considerados similares.

#### **4.8 Análise dos dados**

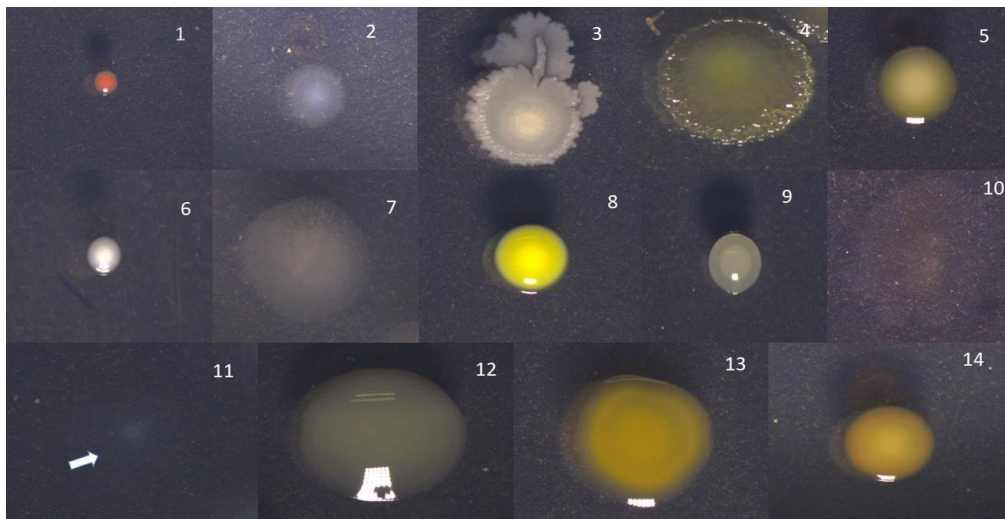
Todos os gráficos utilizados nas análises foram construídos com o auxílio do programa GraphPad Prism Versão 8 para Windows, GraphPad Software, La Jolla California, USA (<https://www.graphpad.com/>).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Isolamento dos morfotipos

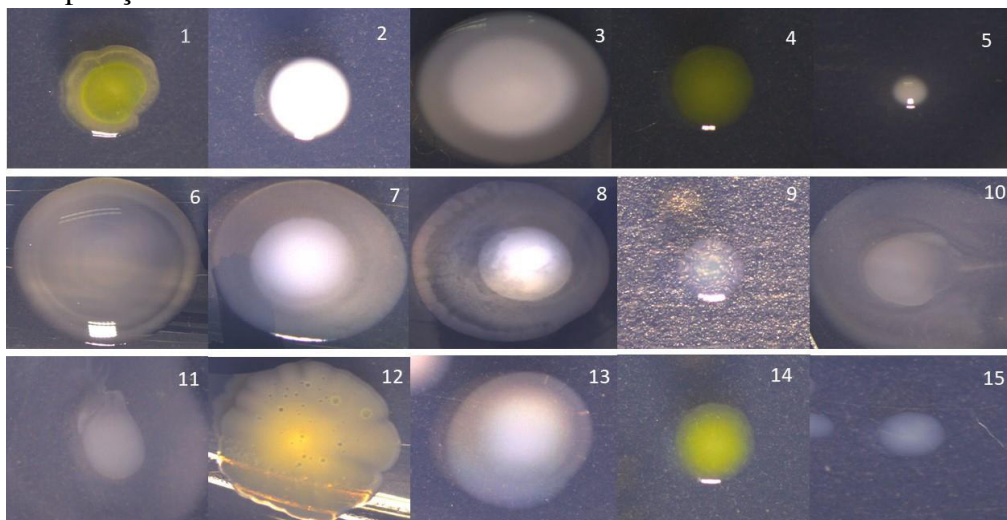
A partir do isolamento inicial foi possível a obtenção de duas coleções bacterianas, sendo isoladas 15 estirpes da rizosfera da área natural (Figura 3) e 15 estirpes da área em recuperação (Figura 4), que se encontram armazenadas no *freezer* – 80°C do Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (Lembiotech) da Universidade Federal do Ceará – UFC.

Figura 3 - Morfotipos isolados da rizosfera de *Mimosa tenuiflora* em área de vegetação natural da caatinga



Fonte: Elaborado pelo autor. Os números no canto superior direito indicam a denominação de cada isolado. O isolado 15 não está representado na imagem (aumento total 75X).

Figura 4 - Morfotipos isolados da rizosfera de *Mimosa tenuiflora* em área de recuperação natural

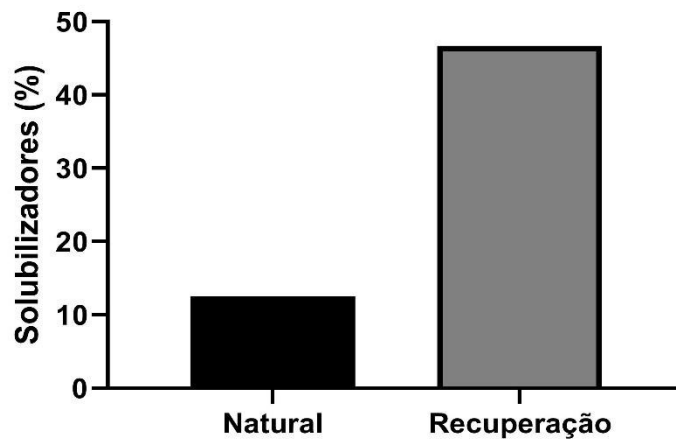


Fonte: Elaborado pelo autor. Os números no canto superior direito indicam a denominação de cada isolado (aumento total 75X).

## 5.2 Teste de solubilização de fosfato

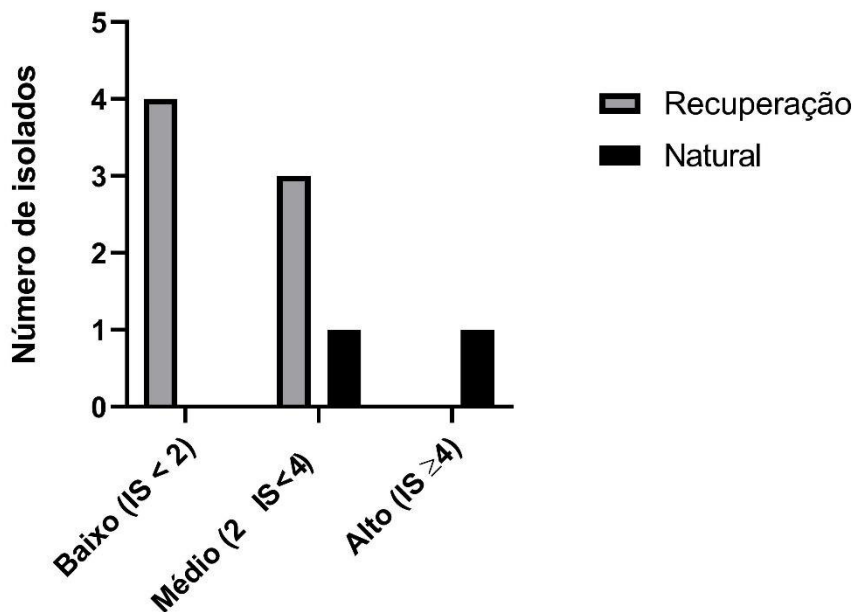
Foram avaliadas todas as bactérias de ambas as coleções. Após o teste foi possível verificar o percentual de isolados solubilizadores de fosfato para as duas áreas. Como demonstrado na Figura 5, o número de organismos positivos para o teste foi maior para área em recuperação.

Figura 5 - Percentual de microrganismos solubilizadores de fosfato para as áreas estudadas



Além disso, os isolados positivos também foram classificados como detentores de baixo, médio ou alto índice de solubilização (IS). As bactérias da área natural foram classificadas como média e alta solubilizadoras, enquanto os organismos da área em recuperação alcançaram o índice baixo e médio (Figura 6).

Figura 6 - Índice de solubilização de fosfato dos morfotipos positivos para o teste



### 5.3 Teste de produção de sideróforos

Foram avaliadas quanto ao potencial de produção de sideróforos 6 estirpes da coleção da área natural, e 13 da área em recuperação. O resultado demonstrou que 3 bactérias da área natural se mostraram positivas ao teste, enquanto na área em recuperação o número de organismos produtores de sideróforos foram 7. Um resumo da análise está exposto na Tabela 1.

Tabela 1 – Número de organismos testados e positivos para produção de sideróforos

	<b>Positivas</b>	<b>Negativas</b>	<b>Total analisadas</b>
Natural	3	3	6
Recuperação	7	6	13

Fonte: elaborada pelo autor.

### 5.4 Avaliação de isolados fixadores de nitrogênio.

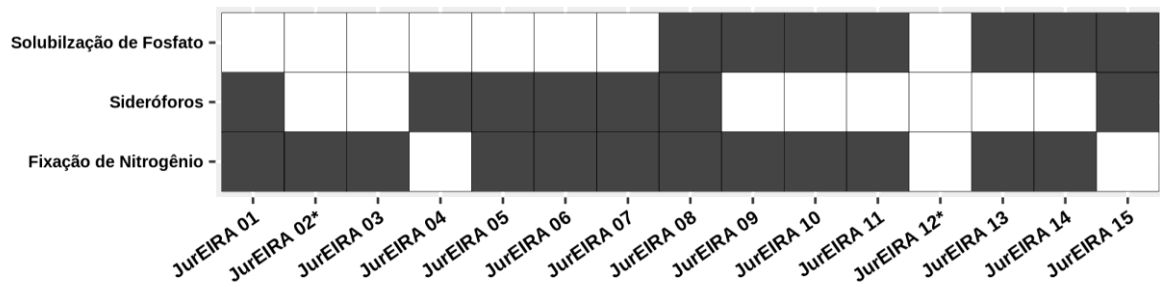
Foram avaliadas as 15 estirpes de cada coleção para determinação da capacidade dos isolados em fixar nitrogênio, os resultados demonstraram que o número de microrganismos fixadores de nitrogênio foi maior na área em recuperação, alcançando 12 estirpes positivas para o teste (80%), em contraste com 7 bactérias positivas da área natural (46%).

### 5.5 Identificação molecular

Os isolados JurEIRA 08, 09, 11, 13, 14 e 15 foram selecionados para identificação molecular. Após a comparação das sequências obtidas com o banco de dados do NCBI, o alinhamento apontou que os isolados 08, 11 e 13 são pertencentes ao gênero *Klebsiella*, enquanto as estirpes 09, 14 e 15 fazem parte do gênero *Pantoea*.

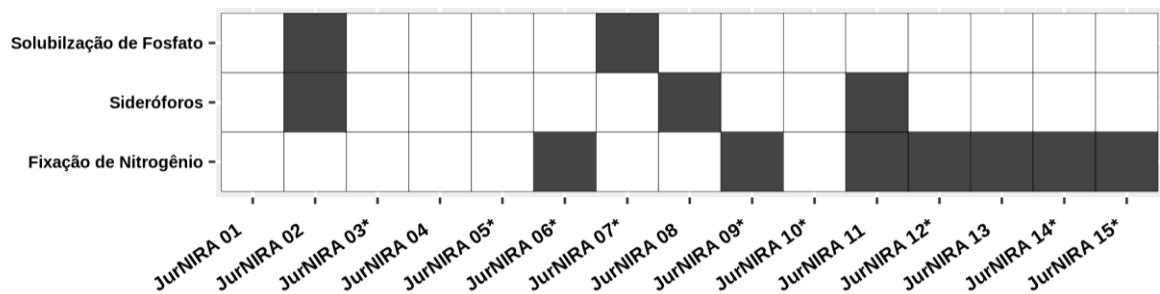
A Figura 7 e a Figura 8 apresentam um apanhado geral dos resultados obtidos no presente estudo.

Figura 7 – Total de bactérias avaliadas da coleção JurEIRA e seu desempenho nos testes realizados



Fonte: Elaborado pelo autor. Os quadrados preenchidos em preto indicam que o isolado foi positivo para o respectivo teste. \* isolados que não foram testados para produção de sideróforos.

Figura 8 - Total de bactérias avaliadas da coleção JurNIRA e seu desempenho nos testes realizados



Fonte: Elaborado pelo autor. Os quadrados preenchidos em preto indicam que o isolado foi positivo para o respectivo teste. \* isolados que não foram testados para produção de sideróforos.

## 6 DISCUSSÃO

O fósforo é um dos elementos mais cruciais para o desenvolvimento vegetal (KHAN *et al.*, 2010). Uma vez que esse nutriente se encontra na maior parte do tempo na forma de fosfato insolúvel para as plantas (HOLANDA *et al.*, 1995), a presença da maior parcela de organismos solubilizadores de fosfato na área em recuperação, indica um forte potencial da *Mimosa tenuiflora* em modular as comunidades microbianas na sua rizosfera, auxiliando no seu crescimento mesmo em ambientes degradados. Além disso, em ambientes conturbados onde a relação entre produtores primários e decompositores não está totalmente estabelecida, a tendência é ocorrer uma maior diversidade de organismos, pois as perturbações geram um mosaico de novos habitats que possibilita a coexistência de diferentes organismos, o que pode contribuir para o restabelecimento do equilíbrio de áreas em processo de regeneração (CONNELL, 1987).

Nahas *et al* (1994) e Sridevi *et al* (2007) relataram que níveis elevados de matéria orgânica em ambientes edáficos exerce forte influência sobre o potencial de solubilização de fósforo por bactérias, fato que pode explicar a razão pela qual a maior porcentagem de microrganismos solubilizadores foi encontrado nas raízes de plantas da área em recuperação, visto que a maior parcela desses organismos na área natural deve estar associada ao solo, uma vez que essa região possui maior capacidade na produção de matéria orgânica. Carvalho *et al* (2016) em sua pesquisa por bactérias solubilizadoras de fosfatos extraídas de raízes de *Cereus* sp, também encontraram um alto índice desses organismos em ambientes de recuperação no município de Irauçuba.

De acordo com Arruda (2014) a utilização da jurema preta para recuperação da vegetação em áreas degradadas da Caatinga possui diversas vantagens, uma vez que essa planta possibilita o estabelecimento posterior de outras espécies, e o aumento da fertilidade e produtividade biológica do solo. Além disso, por ser uma espécie indicadora de sucessão ecológica, possuir características como crescimento acelerado e alta capacidade de rebrota, *Mimosa tenuiflora* é considerada espécie-chave no processo de manutenção da biodiversidade e do bom funcionamento dos ecossistemas (ARRUDA, 2014). Além de sua alta eficácia no estabelecimento das comunidades, a capacidade de se propagar em solos alcalinos e com severo déficit hídrico (MAIA, 2004; BAKKE *et al*, 2006), colocam a jurema preta como uma das melhores alternativas para a recuperação da vegetação nativa de Irauçuba.

Dentre as estirpes de bactérias testadas quanto ao potencial de produção de sideróforos, destacaram-se aquelas isoladas da área em recuperação. Em solos amplamente

degradados, como ocorre em Irauçuba, a baixa disponibilidade de ferro pode impactar negativamente o desenvolvimento vegetal. Dessa forma, a associação vegetal com microrganismos capazes de complexar  $Fe^{3+}$  fornece uma vantagem nutricional para as plantas locais, pois constitui uma fonte assimilável desse nutriente em solos semiárido sob intenso regime de pastejo (GARCIA-ORENES *et al.*, 2012).

Outra vantagem relacionada as bactérias produtoras de sideróforos está na sua capacidade de manutenção da saúde das plantas em que estão associadas. Uma rizobactéria é capaz de inibir o crescimento de um organismo patogênico diminuindo a disponibilidade de ferro no ambiente (CATTELAN, 1999). Kumar e Dube (1992) relataram que ao tratar sementes de *Cicer arietinum* L. e soja com uma cepa de *Pseudomonas* sp. fluorescente e produtora de sideróforos, obtiveram um acréscimo significativo no número de germinação das sementes, no crescimento e na produção das plantas. Além disso, a ocorrência de murcha em exemplares de *Cicer arietinum* cultivadas em solo suscetível a essa doença, diminuiu cerca de 52% (KUMAR E DUBE, 1992). Assim, microrganismos capazes de produzir sideróforos podem possuir um alto potencial biotecnológico para produção de bioinoculantes que visem acelerar a recuperação de vegetação nativa.

As rizobactérias também são essenciais no processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN). Dentre as duas coleções, a área em recuperação apresentou o maior número de bactérias capazes de fixar nitrogênio do ar. A simbiose estabelecida entre esses organismos e leguminosas como a *Mimosa tenuiflora* traz benefícios tanto para o desenvolvimento da planta, quanto para a fertilidade do solo (DINIZ, 2006; QUEIROZ, 2009). De acordo com Moreira (2010), os microrganismos fixadores de nitrogênio podem ser de vida livre, associados com vegetais ou simbiontes, assim, a menor porcentagem de bactérias fixadoras de nitrogênio encontradas na coleção da área natural, possivelmente está associada a um maior percentual desses organismos de vida livre, uma vez que nesses ambientes as comunidades microbianas estão mais estabelecidas.

A diversidade desses microrganismos presentes nos solos e nas raízes das plantas está diretamente associada ao equilíbrio populacional ao longo da cadeia trófica (MOREIRA, 2010), dessa forma, a existência de organismos fixadores de nitrogênio em ambientes degradados indica um forte potencial para sua regeneração. Alguns estudos relatam o isolamento de bactérias diazotróficas associadas as raízes e partes aéreas de plantas de importância agrícola como palmeiras e gramíneas (MAGALHÃES E DÖBEREINER, 1984; DÖBEREINER, 1992; BALDANI *et al.*, 1997; FERNANDES *et al.*, 2001; SALA *et al.*, 2005). A utilização desses microrganismos para potencializar o crescimento vegetal vem

revelando resultados promissores no crescimento de várias espécies de fabaceae (LIMA, 2011). Nesse contexto, a coinoculação de rizobactérias e plantas pode se tornar uma poderosa ferramenta no tratamento de áreas degradadas ou em processo de restauração.

A análise do sequenciamento demonstrou que dos 6 isolados identificados molecularmente, 3 são pertencentes ao gênero *Klebsiella* e 3 fazem parte do gênero *Pantoea*. O gênero *Klebsiella* foi primeiramente caracterizado por Trevisan (1885) e alocado na classe gammaproteobacteria. De acordo com Moreira *et al* (2010), estão descritas 12 espécies para esse gênero, sendo bactérias gram-negativas, não móveis, capsuladas e pertencentes a família Enterobacteriaceae. Os ambientes que essas bactérias vivem são em geral superfície de águas, solo, plantas, e superfície mucosa de mamíferos como humanos, cavalos ou suínos (PODSCHUN E ULLMANN, 1998).

Diversos estudos relatam a importância de *Klebsiella* para a promoção do crescimento vegetal, através da sua contribuição no processo de fixação biológica de nitrogênio (MOREIRA *et al.*, 2010; AGUIAR, 2012; FARINA, 2012) e na síntese de hormônios vegetais como o ácido indol-acético (AIA) (PATTEN E GLICK, 1996). Pesquisas também descrevem a produção de sideróforos por bactérias pertencentes a esse grupo. Podschun (1992) expôs em sua investigação que dentre 481 isolados de *Klebsiella* testados para produção de sideróforos, 98,8% eram capazes de produzir essa molécula. Por fim, o potencial de solubilizar fosfato também foi testado para esse grupo, comprovando que sua utilização auxilia no aumento da disponibilidade desse nutriente no solo (HOSSAIN E SATTAR, 2014).

A alta eficácia de *Klebsiella* na promoção do crescimento vegetal já foi explorada na produção agrícola, através da inoculação de estirpes juntamente com plantas de cana-de-açúcar (GOVINDARAJAN *et al.*, 2007) e no cultivo de trigo (INIGUEZ, DONG E TRIPLETT, 2004). Esses resultados demonstram a alta aptidão que esse grupo possui para produção de possíveis bioinoculantes que visem o tratamento de áreas desertificadas ou que almejem acelerar sua recuperação.

O gênero *Pantoea* pertencente à família Enterobacteriaceae também vem sendo descrito na literatura como promotor do crescimento de plantas (MOREIRA *et al.*, 2010). Esses organismos vivem associados a plantas, e algumas espécies são capazes de causar doenças em humanos (DELÉTOILE *et al.*, 2009). A eficácia desses organismos em promover o desenvolvimento vegetal está associada na sua capacidade em solubilizar fosfatos inorgânicos e produzir AIA (SILVA *et al.*, 2016). Outros estudos também evidenciam a

produção de nitrogenases por *Pantoea* e sua possível associação na fixação biológica de nitrogênio em plantações de batata doce japonesa (MOREIRA *et al.*, 2010).

A comparação dos dados obtidos no presente estudo com os disponíveis na literatura, demonstram um grande potencial dos isolados para a criação de produtos inoculantes visando a recuperação de áreas degradadas. As estirpes identificadas molecularmente mostraram características de rizobactérias promotoras do crescimento vegetal nos testes *in vitro* de solubilização de fosfato, produção de sideróforos e fixação de N, constituindo-se potenciais candidatas a bioinoculantes.

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram uma tendência no perfil dos microrganismos da área em recuperação se comparados a área natural, onde o maior número de isolados capazes de atuar como promotoras do crescimento vegetal foi encontrado na coleção da área em recuperação. Essa tendência pode estar associada a hipótese do distúrbio intermédio, que prediz que em ambientes conturbados as perturbações geram novos habitats que aumentam temporariamente a diversidade de organismos naqueles locais.

Um dos isolados da rizosfera da área em recuperação e classificada como *Klebsiella* sp., foi a que demonstrou maior potencial para promoção do crescimento vegetal, sendo produtora de sideróforo, solubilizadora de fosfato e fixadora de N.

Trabalhos pioneiros como o apresentado podem servir como base para estudos futuros que visem uma caracterização mais ampla do potencial das estirpes de rizobactérias para o tratamento de áreas degradadas. Além disso, a criação de consórcios bacterianos visando averiguar se isso potencializaria a efetividade de bioinoculantes, como também estratégias para disseminar esses inoculantes no campo, podem nortear as pesquisas futuras que objetivem esse mesmo fim.

## REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, L.J.O. **Degradação do solo e desertificação no Nordeste do Brasil**. B. Inf. SBCS, vol. 25(1), p.23-25, 2010.
- AGUIAR, K. P. **Prospecção de bactérias promotoras do crescimento vegetal associadas a vermicompostos**. 2012. 86 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University - Science**, vol. 26(1), p. 1–20. 2014.
- AHN, I.P. LEE, S.W.; KIM, M.G.; PARK, S.R.; HWANG, D.J. Priming by rhizobacterium protects tomato plants from biotrophic and necrotrophic pathogen infections through multiple defense mechanisms. **Molecules and Cells**, vol. 32(1), p.7–14. 2011.
- ALMEIDA, C. L.; ARAÚJO, J. C.; COSTA, M. C. G.; ALMEIDA, A. M. M.; ANDRADE, E. M. Fallow Reduces Soil Losses and Increases Carbon Stock in Caatinga. **Floresta e Ambiente**, [s.l.], v. 24, 2017.
- ALTSCHUL, S. F. GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **J. Mol. Biol.**, v. 215, p. 403–410, 1990.
- ANDRADE, A. G.; TAVARES, S. R. L.; COUTINHO, H. L. C. Contribuição da serrapilheira para recuperação de áreas degradadas e para manutenção da sustentabilidade de sistemas agroecológicos. **Informe Agropecuária**, Belo Horizonte, v. 24, n. 220, p.55-63, 2003.
- AQUINO, D. N.; NETO, O. C. R.; MOREIRA, M. A.; TEIXEIRA, A. S.; ANDRADE, E. M. Use of remote sensing to identify areas at risk of degradation in the semi-arid region. **Rev. Ciênc. Agron.**, Fortaleza, v. 49, n. 3, p. 420-429, Sept. 2018. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-66902018000300420&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902018000300420&lng=en&nrm=iso)>. access on 05 Nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20180047>.
- ARAÚJO, C. S. F.; SOUSA, A. N. Estudo do processo de desertificação na Caatinga: uma proposta de educação ambiental. **Ciência & Educação (Bauru)**, v. 17, n. 4, p. 975–986, 2011.
- ARAÚJO FILHO, J. A.; CARVALHO, F. C. Desenvolvimento sustentado da caatinga. In: ALVAREZ V.; V. H.; FONTES, L. E. F.; FONTES, M. P. F. (Ed.). **O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado**. Viçosa, MG: SBCS; Universidade Federal de Viçosa, p. 125-133. 1996.
- ARRUDA, S. R. **Diversidade e estrutura genética de *Mimosa tenuiflora* (Wild.) Poir.: Importante recurso florestal do semiárido brasileiro**. 2014. 68 f. Dissertação (Mestrado em Genética, Biodiversidade e Conservação) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,

Jequié-BA, 2014.

BAKKE, I. A.; FREIRE, A. L. O.; BAKKE, O. A.; ANDRADE, A. P.; BRUNO, R. L. A. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

BAKKER, P. H.M.; BERENDSEN, R. L.; DOORNBOS, R. F.; WINTERMANS, P. C.; PIETERSE, C. M. The rhizosphere revisited: root microbiomics. **Frontiers in plant science**, 4(May), p.165.2013.

BALDANI, J.I., CARUSO, L., BALDANI, V.L., GOI, S. R., DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, vol. 29, p. 911-922. 1997.

BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M.P. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genet. Mol. Biol.**, São Paulo, v. 35, n. 4, supl. 1, p. 1044-1051, 2012. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-47572012000600020&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47572012000600020&lng=en&nrm=iso)>. access on 09 Sept. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572012000600020>.

BHATTACHARYYA, P.N.; JHA, D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World journal of microbiology & biotechnology**, vol 28(4), p. 1327–50. 2012.

BITAS, V.; KIM, S.H.; BENNETT, J. W.; KANG, S. Sniffing on microbes: diverse roles of microbial volatile organic compounds in plant health. **Molecular plant-microbe interactions : MPMI**, vol. 26(8), p.835–43. 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal - MMA. **Desertificação**. In: CONFERÊNCIA DAS PARTES DA CONVENÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS DE COMBATE À DESERTIFICAÇÃO, 3, Brasília, 1999. 23p.

CAMPOS, J. N. B. Secas e políticas públicas no semiárido: ideias, pensadores e períodos. **Estud. av.**, São Paulo, v. 28, n. 82, p. 65-88, Dec. 2014 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-40142014000300005&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142014000300005&lng=en&nrm=iso)>. access on 05 Nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142014000300005>.

CARVALHO, R. M. M.; SILVA, M. R.; CARVALHO, F. C. T.; REBOUÇAS, R. H.; SOUSA, O. V. Bactérias solubilizadoras de fosfato em solo rizosférico da caatinga. **Revista geonorte**, Edição Especial 5, V.7, N.26, p.48- 60, 2016.

CATTELAN, A. J. **Métodos Qualitativos para Determinação de Características Bioquímicas e Fisiológicas Associadas com Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal**. Londrina: Embrapa, p. 36, 1999.

CCD. **Convenção das Nações Unidas de Combate à Desertificação**. Tradução: Delegação de Portugal. Lisboa (PT): Instituto de Promoção Ambiental, 55p 1995.

CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS – CGEE. **Desertificação, degradação da terra e secas no Brasil**. Brasília, DF: 2016. 252p.

CHAVES, L.L.B. Crescimento de mudas de angico-vermelho em substrato fertilizado e inoculado com rizóbio. **Revista Árvore**, vol. 30, no. 6, p. 911-919. 2006.

CHEN, C.; BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; PAULITZ, T.C. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum* Physiol. **Molec. Plant Pathol**, vol. 56, p. 13-23, 2000.

CLEVELAND, C.C.; HOULTON, B.Z.; NEILL, C.; REED, S.C.; TOWNSEND, A.R.; WANG, Y.P. Using indirect methods to constrain symbiotic nitrogen fixation rates: a case study from an Amazonian rain forest. **Biogeochemistry**, v.99, p.1-13, 2010.

CLEVELAND, C. C.; TOWNSEND, A.R.; SCHIMEL, D.S.; FISHER, H.; HOWARTH, R.W.; HEDIN, L.O.; PERAKIS, S.S.; LATTY, E.F.; VON FISCHER, J.C.; ELSEROD, A; WASSON, N.F. Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N<sub>2</sub>) fixation in natural ecosystems. **Global Biogeochemical Cycles**, vol. 13, no. 2, p.623-645. 1999.

CONNELL, J. H. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. **Science**, vol. 199, p.1302-1310, 1987.

CUNHA, L. H.; PAULINO, J. S. Convivência com o semiárido: um novo paradigma para políticas públicas no Nordeste? In: NEVES, D. P.; GOMES, R. A.; LEAL, P. F. (Org.) **Quadros e programas institucionais em políticas públicas**. Campina Grande: EDUEPB, 2014. p. 27-58.

DIAS, M. P. **Caracterização de isolados de *streptomyces* spp. como rizobactérias promotoras de crescimento e de resistência à *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasilensis* em plantas de *Solanum lycopersicum* (L.)**. 2016. 66 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

DELÉTOILE, A. DECRÉ, D.; COURANT, S.; PASSET, V.; AUDO, J.; GRIMONT, P.; ARLET, G.; BRISSE, S. Phylogeny and identification of *Pantoea* species and typing of *Pantoea* agglomerans strains by multilocus gene sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 300–310, 2009.

DÖBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, vol. 13, p. 1-13. 1992.

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

DÖBEREINER, J. Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil. **Estudos avançados**. vol.4 no.8 São Paulo Jan./Apr. 1990.

ERICK PARIZE; F. C. SILVA. V. M.; SOUZA, K. R.; FIDELIS. **Estudo da produção de sideróforos por bactérias**. In: ii congresso paranaense de microbiologia - simpósio sul-americano de microbiologia ambiental, 2016, Anais eletrônicos... Campinas, GALOÁ, 2018. Disponível em: <<https://proceedings.science/cpm/papers/estudo-da-producao-de-sideroforos-por-bacterias->> Acesso em: 06 set. 2019.

FARAG, M. A.; ZHANG, H.; RYU, C.M. Dynamic Chemical Communication between Plants and Bacteria through Airborne Signals: Induced Resistance by Bacterial Volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, vol. 39(7), p. 1007–1018. 2013.

FARINA, R. **Diversidade de bactérias promotoras do crescimento vegetal associadas à cultura de canola (*Brassica napus* L.) cultivada no município de Vacaria, Rio Grande do Sul**. 2012. 104f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

FERNANDES, M.F.; FERNANDES, R.M.; RODRIGUES, L.S. Bactérias diazotróficas associadas a coqueiros na região de baixada litorânea em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** vol. 36, p. 1509-1517. 2001.

FERREIRA, M. P. S.; ARTHUR, A. G.; QUEIROZ, H. M.; ROMERO, R. E.; COSTA, M. C. G. Alterações de atributos de solos submetidos ao pousio em núcleo de desertificação. **Rev. Ciênc. Agron.** Fortaleza, v. 49, n. 1, p. 22-31, março de 2018. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-66902018000100022&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902018000100022&lng=en&nrm=iso)>. acesso em 05 nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20180003>.

FREITAS, S.S.; MELLO, A.M.T.; DONZELI, V.P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **R. Bras. Ci. Solo**, vol. 27, p. 61-70, 2003.

GARBEVA, P.; VAN VEEN, J.A.; VAN ELSAS, J.D. **Microbial diversity in soil: selection microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness**. *Annu Rev Phytopathol*, v. 42, p. 243–270, 2004.

GLICK, B.R. A melhoria do crescimento das plantas por bactérias de vida livre. **Can J Microbiol** vol. 41, p. 109-117. 1995.

GOVINDARAJAN, M.; KWON, S.W.; WEON, H.Y. Isolation, molecular characterization and growth-promoting activities of endophytic sugarcane diazotroph *Klebsiella* sp. GR9. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.23, p.997-1006, 2007.

GRANT, C. A.; FLATEN, D. N.; TOMASIEWICZ, D. J.; SHEPPARD, S. C. A importância do Fósforo no Desenvolvimento Inicial da Planta. In: **Informações Agronômicas**. V.[sn], nº 95, Piracicaba, 2001.

GRAY E.J; SMITH, D.L. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biol Biochem**, vol. 37, p. 395-

412. 2005.

HOLANDA, J. S.; BRASIL, E. C.; SALVIANO, A. A. C.; CARVALHO, M. C. S.; RODRIGUES, M. R. L.; MALAVOLTA, E. Eficiência de extratores de fósforo para um solo adubado com fosfatos e cultivado com arroz. **Scientia Agricola** (Piracicaba, Braz.).1995.

HOSSAIN, M. B.; SATTAR, M. A. Effect of Inorganic Phosphorus Fertilizer and Inoculants on Yield and Phosphorus Use Efficiency of Wheat. **Journal of Environmental Science and Natural Resources**, v. 7, n. 1, p. 75-79, 2014.

INIGUEZ, A. L.; DONG, Y.; TRIPLETT, E. W. Nitrogen Fixation in Wheat Provided by *Klebsiella pneumoniae* 342. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 17, n. 10, p. 1078-1085, 2004.

JOG, R.; PANDYA, H.; NARESHKUMAR, L.; RAIKUMAR, S. Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. **Microbiology**, vol. 160, p.778–788. 2014.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; AHMED, M.; OVES, M.; WANI, P. A. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective. **Archives of Agronomy and Soil Science**, p. 73–98, 2010.

KLOPPER, J.W. LEONG, J.; TEINTZE, M.; SCHROTH, M.N. *Pseudomonas* siderophores: A mechanism explaining disease-suppressive soils. **Current Microbiology**, vol 4(5), p. 317–320. 1980.

KUMAR, B. S. D.; DUBE, H. C. Seed bacterization with a fluorescent pseudomonas for enhanced plant growth, yield and disease control. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.24, p.539-542, 1992.

LAKSHMANAN, V. SHANTHARAJ, D.; LI, G.; SEYFFERTH, A. L.; SHERRIER, D. J.; BAIS, H.P. A natural rice rhizospheric bacterium abates arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). **Planta**, vol. 242(4), p.1037–1050. 2015.

LEAL, I. R.; SILVA, J. M.; TABARELLI, M.; LACHER Jr.; T. E. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. In: Conservação internacional do Brasil (ed.). **Megadiversidade**, v.1, p.139-146, 2005.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. p. 237-273. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

LE HOUEROU, H. N. Desertization. In: LAL, R. (Ed.). **Soil Science**, p. 468-474, 2006.

LEE, J. POSTMASTER, A.; SOON, H.P.; KEAST, D.; CARSON, K. C. Siderophore production by actinomycetes isolates from two soil sites in Western Australia. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, vol. 25(2), p. 285–96. 2012.

- LIMA, A. S. T.; BARRETO, M. C. S.; ARAÚJO, J. M.; SELDIN, L.; BURITY, H. A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Sinergismo *Bacillus*, *Brevibacillus* e, ou, *Paenibacillus* na simbiose *Bradyrhizobium-caupi*. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 713-721, June 2011. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-06832011000300006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832011000300006&lng=en&nrm=iso)>. access on 02 Nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832011000300006>.
- LIN, Y.; DU, D.; SI, C.; ZHAO, Q.; LI, Z.; LI, P. Potential biocontrol *Bacillus* sp. strains isolated by an improved method from vinegar waste compost exhibit antibiosis against fungal pathogens and promote growth of cucumbers. **Biological Control**, vol. 71, p.7–15. 2014.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2. ed. Odessa: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, vol. 2, 92 p. 1998.
- MAGALHÃES, F.M.M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de *Azospirillum amazonense* em alguns ecossistemas da Amazônia. **Revista de Microbiologia**, vol. 15, p. 246-252. 1984.
- MAIA, G. N. **Caatinga** - árvores e arbustos e suas utilidades. 1. ed. São Paulo: D&Z Computação Gráfica e Editora, 2004. 413 p.
- MARCHETTI, M. M.; BARP, E. A. Efeito Rizosfera : a Importância De Bactérias Fixadoras De Nitrogênio Para O Solo / Planta – Revisão. **Ignis: Periódico Científico de Arquitetura e Urbanismo**, v. 4, n. 1, p. 61–71, 2016.
- MARRA, L. M. **Solubilização de fosfatos por bactérias e sua contribuição no crescimento de leguminosas e gramíneas**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2012. 141 p.
- MEHTA, P.; WALIA, A.; KULSHRESTHA, S.; CHAUHAN, A.; SHIRKOT, C. K. Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing *Bacillus circulans* CB7 for enhancement of tomato growth under net house conditions. **Journal of Basic Microbiology**, vol. 55(1), p.33–44. 2014.
- MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia Ambiental**. 2a Ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. 647 p.
- MELO, R. C. A. **Isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* produtores e não produtores de kpc: relação com a presença dos genes de virulência *fimH*, *mrkD* E *irp2***. 2013. 89 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.
- MOREIRA, F. M. S. SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74–99, 2010.
- NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Efeito das características químicas dos solos sobre os microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. **Revista**

**Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, p.49-53, 1994.

NASCIMENTO, E. P. Trajetória da sustentabilidade: do ambiental ao social, do social ao econômico. **Estudos Avançados**, v. 26, n. 74, p. 51–64, 2012.

NIHORIMBERE, V.; ONGENA, M.; SMARGIASSI, M.; PHILIPPE, T. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. **Biotechnologie Agronomie Societe Et Environnement**, vol. 15(2), p. 327–337. 2011.

NOVAIS, R. F. et al. Fósforo. In. NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. V. H.; BARROS, N. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG: SBCS, 2007. p. 471-550.

PAES, J.B.; DINIZ, C.E.F.; MARINHO, I.V.; LIMA, C.R. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies flores de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne, Lavras**, vol. 12, no. 3, p. 232-238. 2006.

PATTEN, C.L.; GLICK, B.R.. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal Microbiology**, v.42, p.207-220, 1996.

PEREIRA FILHO, J. M.; VIEIRA, E. L.; KAMALAK, A.; SILVA, A. M. A.; CEZAR, M. F. E.; BEELEN, P. M. G. Correlação entre o teor de tanino e a degradabilidade ruminal da matéria seca e proteína bruta do feno de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret) tratada com hidróxido de sódio. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, n. 8, 2005.

PODILE, A.R; KISHORE, G.K. Plant growth-promoting rhizo-bacteria. In: Gnanamanickam SS (ed) **Plant-Associated Bacteria**. Springer, Netherlands, p. 195-230. (2006).

PODSCHUN, R.; FISCHER, A.; ULLMANN, U. Siderophore Production of *Klebsiella* Species Isolated from Different Sources. **Zentralblatt fur Bakteriologie**, v. 276, n. 4, p. 481–486, 1992.

PODSCHUN, R., ULLMANN, U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. **Clinical Microbiology Review**, vol. 11, p. 589–603. 1998.

QUEIROZ, L.P. **Leguminosas da caatinga**. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana. 2009.

RAMÍREZ, M.L. MENDOZA, G. D.; DURAN, C. C.; JUAREZ, G. O. Molecular identification of phosphate-solubilizing native bacteria isolated from the rhizosphere of *Prosopis glandulosa* in Mexicali valley. **Genetics and Molecular Research**, vol. 14(1), p. 2793–2798. 2015.

REDDY, P. P. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Recent advances in crop protection. **Springer**, India, p. 131–145. 2013.

SA, I. B.; SÁ, I. I. S. **Desertificação de áreas agrícolas no Semi-Árido brasileiro**. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PLANTAS DANINHAS NO SEMI-ÁRIDO, Mossoró. Anais... Mossoró: UFERSA, 2007. p. 53-68. 2007.

SÁ, M. C. A. GOUVEIA, I. V.; KREWER, C. C.; VESCHI, J. L. A.; MATTOS-GUARALDI, A. L.; COSTA, M. M. Distribution of PLD and FagA, B, C and D genes in *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats with caseus lymphadenitis. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, n. 2, p. 265–268, 2013.

SALA, V.M.R.; FREITAS, S.S.; DONZELI, P.; FREITAS J.G.; GALLO, P.B.; SILVEIRA, A.P.D. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, vol. 29, p. 345-352. 2005.

SARDINHA, R. M. A. Dryland Management and Combating Desertification Through Development. **Silva Lusitana**, v. 16, n. 1, p. 21–44, 2008.

SCHWYN, B.; NEILANDS, J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v. 160, n. 1, p.47-56, 1987.

SILVA, G. R. **Bioprospecção de actinobactérias isoladas da rizosfera de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. do bioma Caatinga**. 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SILVA, R. M. A. Entre dois paradigmas: combate à seca e convivência com o semi-árido. **Soc. estado.**, Brasília, v. 18, n. 1-2, p. 361-385, Dec. 2003. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-69922003000100017&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-69922003000100017&lng=en&nrm=iso)>. access on 05 Nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-69922003000100017>.

SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S.; SILVA, L.R.C.; LOMBARDI, M.L.C.O.; CARDOSO, E.J.B.N. Interações de micorrizas arbusculares e rizobactérias promotoras do crescimento em plantas de feijão. **R. Bras. Ci. Solo**, vol. 19, p. 205-211, 1995.

SRIDEVI, M.; MALLAIAH, K.V.; YADAV, N.C.S. Phosphate solubilization by Rhizobium isolates from *Crotalaria species*. **J Plant Sciences**, vol. 2, p. 635-639, 2007.

SPEROTTO, R. A. **Protocolos e métodos de análise em laboratórios de biotecnologia agroalimentar e de saúde humana**. 1. ed. Lajeado: Editora univates, 2014.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F.M.M.; OLIVEIRA, L.A. & PEREIRA, R.M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazon.**, v.12, p.15-22, 1982.

TREVISAN, V. Caratteri di alcuni nuovi generi di Batteriacee. **Atti della Accademia FisicaMedica-Statistica in Milano**, vol. 3, p. 92-107. 1885.

TRIGUEIRO, E. R. C.; OLIVEIRA, V. P. V.; BEZERRA, C. L. F. Indicadores biofísicos e a dinâmica da degradação/desertificação no bioma caatinga: estudo de caso do município de Tauá, Ceará. **Revista Eletrônica do Prodepa**, v. 3, n. 1, p. 62-82, 2009.

WANG, C. WANG, Z.; QIAO, X.; LI, Z.; CHEN, M.; WANG, Y.; HUANG, Y.; CUI, H. Antifungal activity of volatile organic compounds from *Streptomyces alboflavus* TD-1. **FEMS Microbiology Letters**, vol. 341(1), p.45–51. 2013

WAWRIK, B. KERKHOF, L.; ZYLSTRA, G. J.; KUKOR, J. J. Identification of unique type II polyketide synthase genes in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 5, p. 2232–2238, 2005.

WEISBURG, G.T.; BARNS, S.M.; PELLETIER, D. A.; LANE, D. J. Amplificação do DNA ribossômico 16S para estudo filogenético. **J. Bacteriol.** vol. 173(2), p. 697–703. 1991.