



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE RECURSOS
NATURAIS

JOÃO VICTOR TEIXEIRA DE ANDRADE

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE
PLANTAS NA MICROBIOTA ENDOFÍTICA DE *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir

FORTALEZA

2024

JOÃO VICTOR TEIXEIRA DE ANDRADE

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE
PLANTAS NA MICROBIOTA ENDOFÍTICA DE *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia de recursos naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Vânia Maria Maciel Melo.

FORTALEZA

2024

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

- A567b Andrade, João Victor Teixeira de.
Bioprospecção de bactérias promotoras do crescimento de plantas na microbiota endofítica de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir. / João Victor Teixeira de Andrade. – 2024.
71 f. : il.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, Fortaleza, 2024.
Orientação: Profa. Dra. Vânia Maria Maciel Melo.
1. Bactérias promotoras do crescimento vegetal. 2. Bioma Caatinga. 3. Degradação do solo. 4. Interação planta-bactéria. 5. Microbioma endofítico. I. Título.

CDD 660.6

JOÃO VICTOR TEIXEIRA DE ANDRADE

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE
PLANTAS NA MICROBIOTA ENDOFÍTICA DE *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia de recursos naturais.

Aprovada em 26/03/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Vânia Maria Maciel Melo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Márcio Viana Ramos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Talita Camila Evaristo da Silva Nascimento
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

A todas as formas que meu Deus e nosso Universo se apresentam a mim.

Aos meus pais, Iramilton e Ana Selma, que estão por trás de todo o meu sucesso e à toda a minha família, que apoiaram essa caminhada.

A todos os meus amigos e colegas da UFC e dos laboratórios LEMBIOTECH e LARGEN. Agradeço, em especial, à minha professora e orientadora Vânia Melo, que, além das incontáveis contribuições à minha formação humana e profissional, protagonizou comigo a concepção e execução deste estudo.

Agradeço, também, a todos aqueles que contribuíram de formas adjacentes a este trabalho.

RESUMO

Mimosa tenuiflora é uma planta pioneira encontrada em áreas desertificadas do semiárido brasileiro, onde desempenha papel fundamental na sucessão ecológica do bioma Caatinga. Apesar da relevância das bactérias endofíticas para o desenvolvimento e saúde das plantas, o conhecimento acerca dessa comunidade em *M. tenuiflora* ainda possui diversas lacunas. Este estudo, nesse sentido, teve o objetivo de isolar e caracterizar bactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPB) da comunidade endofítica de *M. tenuiflora* com o propósito de obter um consórcio de PGBP para acelerar a restauração de áreas degradadas da Caatinga. Para tanto, foram coletadas raízes em áreas nativas de Caatinga (RN), áreas em recuperação natural de 23 anos de sobrepastoreio (RR) e áreas em estágio crítico de desertificação (RD). As raízes foram maceradas em solução salina, diluídas e inoculadas em diferentes meios nutricionais. Os isolados foram caracterizados e testados quanto à produção de ácido indol-acético, amônia, sideróforos e exopolissacarídeos, bem como, quanto à solubilização de potássio e fosfato inorgânico. No total foram obtidos 86 isolados, sendo 22, 28 e 36 provenientes de RD, RN e RR, respectivamente. Todos os isolados foram positivos para pelo menos uma atividade de promoção do crescimento das plantas. Amônia, sideróforos e exopolissacarídeos destacam-se como as atividades mais conservadas. A solubilização de potássio só foi observada em bactérias de RN. Além disso, foi possível verificar que os PGPB das áreas RD e RR apresentaram menos atividades funcionais, comparados aos isolados das áreas RN. Nove cepas de PGPB, compreendendo Proteobacteria e Actinobacteria, foram selecionadas como promissoras para o desenvolvimento de bioinoculantes nativos para acelerar a sucessão ecológica de áreas degradadas no semiárido brasileiro. A partir da identificação molecular com o gene 16S rRNA, observou-se que todos os isolados promissores ilustram espécies associadas à promoção do crescimento vegetal em ambientes marcados por condições abióticas adversas, tais como salinidade, estresse hídrico e contaminação por metais.

Palavras-chave: bactérias promotoras do crescimento vegetal; bioma Caatinga; degradação do solo; interação planta-bactéria; microbioma endofítico.

ABSTRACT

Mimosa tenuiflora is a pioneer plant found in desertified areas of the Brazilian semi-arid region, where it plays a fundamental role in the ecological succession of the Caatinga biome. Despite the relevance of endophytic bacteria for plant development and health, knowledge about this community in this plant still has several gaps. This study, in this sense, aimed to isolate and characterize plant growth-promoting bacteria (PGPB) from the endophytic community of *M. tenuiflora* with the purpose of obtaining a consortium of PGBP to accelerate the restoration of degraded areas of the Caatinga. To this end, roots were collected in native areas of the Caatinga (RN), areas undergoing natural recovery from 23 years of overgrazing (RR) and areas in a critical stage of desertification (RD). The roots were macerated in saline solution, diluted and inoculated in different nutritional media. The isolates were characterized and tested to produce indole acetic acid, ammonia, siderophores and exopolysaccharides, as well as for the solubilization of potassium and inorganic phosphate. In total, 86 isolates were found, with 22, 28 and 36 coming from RD, RN and RR, respectively. All isolates were positive for at least one plant growth-promoting activity. Ammonia, siderophores and exopolysaccharides stand out as the most conserved activities. Potassium solubilization was only observed in RN bacteria. Furthermore, it was possible to verify that PGPB from areas RD and RR included fewer functional activities, compared to isolates from areas RN. Nine strains of PGPB, comprising Proteobacteria and Actinobacteria, were selected as promising for the development of native bioinoculants to accelerate the ecological succession of degraded areas in the Brazilian semi-arid region. From molecular identification with the 16S rRNA gene, it was observed that all promising isolates illustrate species associated with promoting plant growth in environments marked by adverse abiotic conditions, such as salinity, water stress and metal contamination.

Keywords: plant growth-promoting bacteria; caatinga Biome; soil degradation; plant-bacteria interaction; endophytic microbiome.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	07
2	REFERENCIAL TEÓRICO	09
2.1	Jurema preta (<i>Mimosa tenuiflora</i>) como planta pioneira de interesse para recuperação de áreas degradadas da Caatinga.....	09
2.2	O estado da desertificação no semiárido brasileiro.....	12
2.3	Bactérias promotoras do crescimento vegetal e seus mecanismos.....	16
2.4	Bactérias endofíticas de plantas pioneiras e de <i>Mimosa tenuiflora</i>	26
3	JUSTIFICATIVA	33
4	HIPÓTESES	34
5	OBJETIVOS	35
6	MATERIAIS E MÉTODOS	36
7	RESULTADOS	44
8	DISCUSSÃO	54
9	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63

1.INTRODUÇÃO

A crescente degradação ambiental e a expansão de áreas desertificadas representam desafios prementes em escala global, exigindo abordagens inovadoras e sustentáveis para a restauração de ecossistemas (UNCCD, 2022). O semiárido brasileiro, caracterizado pelo bioma Caatinga, é o mais populoso do planeta, sofrendo com alta exploração ambiental e oferecendo pouca disponibilidade de recursos. Consequência disso é a presença de áreas altamente degradadas no território brasileiro, denominados núcleos de desertificação e, recentemente, o aparecimento dos primeiros territórios áridos do Brasil (TOMASELLA; CUNHA; MARENGO, 2023).

Nesse contexto, *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir, (jurema preta), emerge como uma notável planta pioneira, reconhecida por sua habilidade de colonizar ambientes degradados e desertificados. É uma espécie de ampla distribuição que ocorre frequentemente em regiões caracterizadas por secas periódicas distribuindo-se no Brasil, Colômbia, El Salvador, Honduras, México e Venezuela, onde forma densas populações. No Brasil, ocorre em toda região Nordeste estendendo-se até o estado de Minas Gerais, sendo cultivada ainda no Pará. Essa planta demonstra características únicas que a tornam uma peça-chave na restauração de ecossistemas degradados. Em destaque, suas raízes profundas e sua associação com bactérias fixadoras de nitrogênio a tornam uma candidata promissora para a recuperação de terras que sofrem com a depleção de nutrientes e condições adversas (DA SILVA SÁ *et al.*, 2013).

Apesar dos avanços na compreensão da interação entre plantas e microrganismos, o conhecimento sobre o microbiota endofítica de *M. tenuiflora* permanece escasso. Este fato destaca uma lacuna na literatura científica, já que esse grupo de seres vivos desempenha um papel crucial na saúde e adaptação das plantas a condições desafiadoras (TRIVEDI *et al.*, 2020). Os microrganismos endofíticos associados à jurema preta são de particular interesse devido ao seu potencial como promotores do crescimento vegetal. Sua capacidade de facilitar a absorção de nutrientes, melhorar a tolerância a estresses ambientais e modular o desenvolvimento das plantas pode ser um fator decisivo no sucesso adaptativo da jurema preta (ELLIOTT *et al.*, 2009).

A compreensão da microbiota endofítica pode fornecer *insights* valiosos para o desenvolvimento de estratégias inovadoras de restauração ecológica. Além de esclarecer a dinâmica planta-microrganismos, existe a possibilidade de utilizar esses microrganismos como bioinoculantes. Essa abordagem poderia acelerar o processo de recuperação de áreas

degradadas, apresentando-se como uma estratégia sustentável e eficaz para restaurar ecossistemas comprometidos (SANTOS; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2019).

Nesse contexto, este estudo tem por objetivo o isolamento e a caracterização de bactérias endofíticas de jurema preta e a identificação de isolados promotores de crescimento de plantas visando o desenvolvimento de bioinoculantes para futuras aplicações na recuperação de áreas em processo de desertificação da Caatinga.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) como planta pioneira de interesse para recuperação de áreas degradadas da Caatinga

Mimosa tenuiflora (Willd.) Poir, pertence à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae, nativa da região semiárida do Brasil. Sua ocorrência é limitada ao clima intertropical da América Latina, se estendendo por todos os estados do Nordeste brasileiro, bem como em Minas Gerais, e em algumas regiões da Colômbia, El Salvador, Panamá, Honduras, México e Venezuela (CARVALHO, 2010; GREATHER, 1988). Devido a tal distribuição, essa espécie atende por diversos nomes, como Calumbi, Tepezcohuite e Carbón-colorado; no Brasil, ela é chamada, de modo geral, pelo seu nome de origem tupi-guarani: Jurema preta (FLORA DO BRASIL, 2023).

Jurema preta é uma planta de porte arbustivo arbóreo, podendo atingir de 3 a 7 metros de altura e 30 centímetros de Diâmetro à Altura do Peito (DAP) em sua idade adulta (Figura 1). Seu caule possui tronco reto e ramificações diversas com presença de acúleos e suas folhas são compostas bipinadas. As flores são pequenas e brancas, formando inflorescências espiciformes que geram vagens lineares e achatadas, as quais contêm pequenas sementes com cerca de 4 milímetros de diâmetro. Seus indivíduos podem ser identificados, principalmente, pelo seu cálice 4-angulado e pelas suas inflorescências latentes que se desenvolvem simultaneamente com as espigas em plena floração, bem como pelos artículos inflados na região das sementes localizadas em sua vagem (CARVALHO, 2010; FLORA DO BRASIL, 2023).

Figura 1. Fotos de arbusto e inflorescências de *Mimosa tenuiflora*.



Fonte: Natureza Bela (<https://www.naturezabela.com.br/2011/05/jurema-mimosa-hostilis.html>)

Diversas são as aplicações econômicas da jurema preta. Essa espécie possui folhas e frutos com grande potencial forrageiro, possuindo consideráveis níveis de amido, proteínas, fibras e cálcio (CARVALHO, 2010). A própolis produzida por jurema preta tem propriedade estimulante do sistema imune humano (SARTORI *et al.*, 2024). O caule possui madeira de grande densidade e alto poder calorífico, devido ao alto teor de lignina e líquido pirolenhoso, podendo ser utilizada como matéria prima de construções e como fonte de lenha para obtenção de energia (DIAS *et al.*, 2018). Extratos da sua casca também são usados na indústria de cosméticos e dermatologia devido às suas propriedades regenerativas e cicatrizantes (NICOLESCU *et al.*, 2021).

Essa espécie também é conhecida por desenvolver uma grande diversidade de moléculas de interesse cultural e medicinal, tais como as substâncias psicoativas dimetiltriptamina (DMT) e harmina produzidas em sua casca, que funcionam como análogos da famosa Ayahuasca. Culturalmente, a esses compostos são utilizados em rituais indígenas, por meio da produção de chás alucinógenos com as raízes e cascas da planta (AMARIZ *et al.*, 2022; KAASIK *et al.*, 2021). Enquanto isso, a casca das raízes de jurema preta é tradicionalmente usada para tratar feridas, queimaduras, infecções e problemas dermatológicos (PAZYAR *et al.*, 2014). Ademais, propriedades específicas da jurema estão sendo estudadas visando o tratamento de distúrbios de ansiedade e depressão (DUARTE-FILHO *et al.*, 2022).

Dentre essas, e outras, aplicações da jurema preta, o presente estudo irá destacar o que a desponta como espécie de relevante interesse ecológico: seu pioneirismo em terras secas. Espécies pioneiras são aquelas capazes de colonizar áreas degradadas, com disponibilidade de recursos e condições adversas às comunidades mesófilas. Em específico, são comumente conhecidas por possuírem sementes que germinam em solos com baixo aporte nutricional, hídrico e com alta radiação solar. Essa resistência está associada a rápidos crescimentos e ciclo reprodutivo, bem como a estratégias para uma produção abundante de sementes. Desde a sua germinação, elas iniciam uma estabilização de ambientes degradados/inóspitos; isso ocorre por meio da inserção de nutrientes no solo, acúmulo de água e, em especial para terras secas, diminuição da taxa de radiação solar que chega no solo (DALLING; BROWN, 2009; HOLUB, 2007; SOUCEK, 2021)

Em contrapartida, é válido ressaltar que ambientes associados a tais plantas tendem a se desenvolver de modo homogêneo, até que ocorra a colonização de espécies secundárias, principalmente com relação a ambientes degradados, onde inexitem, ou são escassos, os bancos de sementes (TABARELLI; PERES; MELO, 2012). Ainda assim, espécies pioneiras

são amplamente utilizadas como ferramentas para a recuperação de solos e, conseqüentemente, de áreas degradadas (CARPANEZZI *et al.*, 1990; LI; LIBER, 2018; WANG; WU; LIU, 2009).

A *Mimosa tenuiflora*, nesse sentido, expressa diversas evidências que a classificam como uma planta pioneira. São elas: i) sua tolerância à seca e a solos pobres nutricionalmente; ii) sua simbiose com bactérias diazotróficas; iii) seu rápido crescimento, o que também diminui a erosão do solo em que vive e facilita a chegada de outras plantas; iv) sua alta produção de sementes, facilitando sua dispersão e estabelecimento no ambiente; v) sua resistência ao fogo e ao corte, adquirida através de seu caule lenhoso e espesso (SILVA SÁ *et al.*, 2013; DOLORES *et al.*, 2014; SAMPAIO *et al.*, 1997). Corroborando com isso, jurema preta é uma das principais plantas presentes em ambientes desertificados do Brasil (OLIVEIRA; SALES, 2015; SOUZA; MENEZES; CÁMARA ARTIGAS, 2015)

Em um estudo de reflorestamento de áreas de caatinga do estado da Paraíba, Figueiredo *et al.* (2012) avaliaram, dentre outras espécies, o crescimento de jurema preta em solos degradados pela desertificação. Os autores constataram que, no período de 2 anos, os indivíduos de *M. tenuiflora* obtiveram o maior sucesso de desenvolvimento entre as espécies estudadas, auxiliando, inclusive, no aumento de 93% da cobertura do solo. De modo semelhante, Lima *et al.* (2015) avaliaram o crescimento de 20 espécies nativas de plantas em minas de pirraça no Rio Grande do Norte. Após a exploração dessas minas, o solo local pode apresentar degradação da sua condição físico-química e biológica naturais, sendo necessário o reflorestamento dessas áreas. Os autores reportaram que 660 dias após o plantio, uma das plantas que mais obteve sucesso nesses sítios foi a jurema preta, destacando-se como uma alternativa primordial para a recuperação dessas áreas (LIMA *et al.*, 2015).

Em um estudo de áreas salinas, jurema preta foi cultivada em ambiente com alta taxa de sódio no solo, visando avaliar se o seu crescimento iria diminuir a degradação química e a inatividade de água daquele ambiente. De fato, a jurema preta foi reportada como uma espécie que promove a diminuição do estresse hídrico (SILVA SÁ *et al.*, 2013). Essa evidência corrobora para a ideia de que ela também se comporta como uma planta facilitadora para a colonização de plantas de estágio intermediário de sucessão.

É evidente, portanto, que a *M. tenuiflora* é uma planta com grande facilidade de colonizar ambientes degradados, e até mesmo se aproveita das situações de antropização, tornando-se dominante no processo de sucessão por um bom tempo. O que chama atenção é que em muitas áreas degradadas de Caatinga, a jurema preta expressa uma população quase que dominante (CARVALHO, 2010). No Ceará, essa planta compõe uma grande parcela da

diversidade, sendo, inclusive, alvo de estudos acerca da sua distribuição futura diante de mudanças climáticas (CHAGAS; LUCAS; DE ALMEIDA VIEIRA, 2020). Um exemplo disso é que o núcleo de desertificação de Irauçuba-CE é expressamente ilustrado por indivíduos de jurema preta (OLIVEIRA; SALES, 2015), fato que, com base na união de dados de Oliveira *et al.*, 2021 e Pereira *et al.* (2021), sugerem o protagonismo dessa planta na recuperação dessas áreas.

2.2 A desertificação no semiárido brasileiro

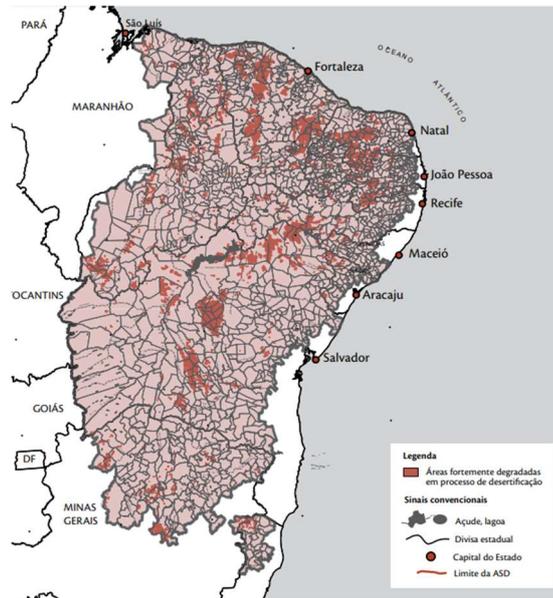
As terras secas são áreas que abrangem os climas árido, semiárido e sub-úmido seco, representando cerca de 40% da superfície do planeta (UNCCD, 2022). Essas áreas são conhecidas por apresentarem uma taxa de precipitação menor que seu potencial de evapotranspiração, atingindo valores menores que a razão 0,65. Essa taxa reflete áreas mais sensíveis (HANAN *et al.*, 2021), mas que expressam uma grande biodiversidade, abrigam mais de 2 bilhões de pessoas e originam cerca de $\frac{1}{3}$ da produtividade de plantações mundiais (UNCCD, 2022). Diante do agravamento das mudanças climáticas globais estima-se que essas áreas aumentem significativamente nas próximas décadas (HUANG *et al.*, 2016).

A Convenção das Nações Unidas no Combate à Desertificação (UNCCD) define a desertificação como o processo de degradação das terras secas, resultante de fatores contidos em variações climáticas e alterações antrópicas no ambiente. Esse processo afeta diretamente o potencial de prover serviços ecossistêmicos e produtividade para o desenvolvimento de populações, gerando consequências ambientais, socioeconômicas e culturais (UNCCD, 2022). No Brasil, a distribuição e delimitação de áreas suscetíveis à desertificação (ASD) se concentra no Nordeste e caracterizam, em grande parte, o Semiárido Brasileiro (SAB) (MMA, 2004).

De modo geral, o SAB (Figura 2) representa a porção mais seca da região Nordeste, cobrindo 1.129.000 km² (12% do território brasileiro) e abrigando cerca de 22 milhões de pessoas (IBGE, 2012). Seus eventos de estiagens são mais severos e, portanto, os déficits hídricos mais significativos; consequência disso é a sua notável diferença entre oferta e demanda de recursos naturais, efeito que mimetiza as regiões áridas (MMA, 2004). Apresentando um índice de aridez que pode variar entre 0,21 e 0,50, o SAB dispõe, no tempo e no espaço, de uma clara irregularidade pluviométrica. Isto é, a taxa média de evapotranspiração é de 2000 mm, em contraste à sua precipitação de 800 mm; seu período seco pode variar de 7 a 9 meses e seu volume de chuva sofre variações ao longo da estação chuvosa

e do território em si. Tais condições refletem ambientes com solos rasos, pedregosos e com rochas afloradas, gerando uma rasa cobertura vegetal (CGEE, 2016).

Figura 2. Mapa do semiárido brasileiro (SAB), com destaque para áreas fortemente degradadas.



Fonte: CGEE, 2016

Em contrapartida, o SAB detém grande biodiversidade; em grande parte, isso se deve às diversas adaptações desenvolvidas pela fauna, flora e microbiota deste ambiente, as quais caracterizam uma extensa e importante formação fisionômica brasileira: a Caatinga. Esse domínio morfoclimático é um ecossistema exclusivamente brasileiro que abrange 826.411 km², compondo 11% do território nacional e 70% da região nordeste (EMBRAPA, 2021). É caracterizado, principalmente, por sua savana estépica, com florestas secas e espaçadas e vegetação arbóreo-arbustiva que possui adaptações ao clima quente e seco da área, tais como espinhos, microfilia, caules suculentos e perda de folhas durante a estação seca (HAUFF, 2010; LEAL *et al.*, 2005). Muitas adaptações também se aplicam à sua fauna, que possui adaptações ao hábito noturno, comportamento migratório e hibernação em ambientes quentes; destacam-se as aves, peixes e abelhas como principais contribuintes dessa riqueza (EMBRAPA, 2021). Além disso, por ser um ambiente consideravelmente heterogêneo, a Caatinga possui uma alta taxa de endemismos (MMA, 2004).

Esse ambiente também possui numerosa presença humana, representando a região semiárida mais populosa do mundo (HAUFF, 2010). Tal ocorrência se deu, historicamente, pela perspectiva de exploração destas terras ao longo dos anos, processo que causou o aumento da

sua ocupação e, em contrapartida, desenvolveu expectativas que excederam a sua oferta de recursos. Esse panorama colaborou, e o faz até hoje, para o histórico de baixos índices socioeconômicos da região e, em um ciclo de causa e consequência, para o processo de degradação das terras semiáridas proporcionado pela desertificação (CGEE, 2016).

Destaca-se, ainda, o sucesso não expressivo da agricultura neste semiárido como grande contribuinte para o problema (CGEE, 2016). Alternativas econômicas tomadas para reverter esse cenário são a adoção de diversos métodos de explorações agrícolas inapropriadas, com gestão incorreta de água e redução do volume dos corpos hídricos; bem como outras formas de exploração do ambiente, se destacando a queima de lenha para a produção de energia (CGEE, 2016; SÁ *et al.*, 2010). Outro fator de causa que se deve levar em conta é o da conservação da Caatinga: 62% das Áreas Suscetíveis à Desertificação (ASD) brasileiras estão inseridas nela (HAUFF, 2010). Entretanto ela continua, proporcionalmente, sendo a formação menos estudada e protegida do Brasil, com apenas 8% do seu território disposto dentro de unidades de conservação.

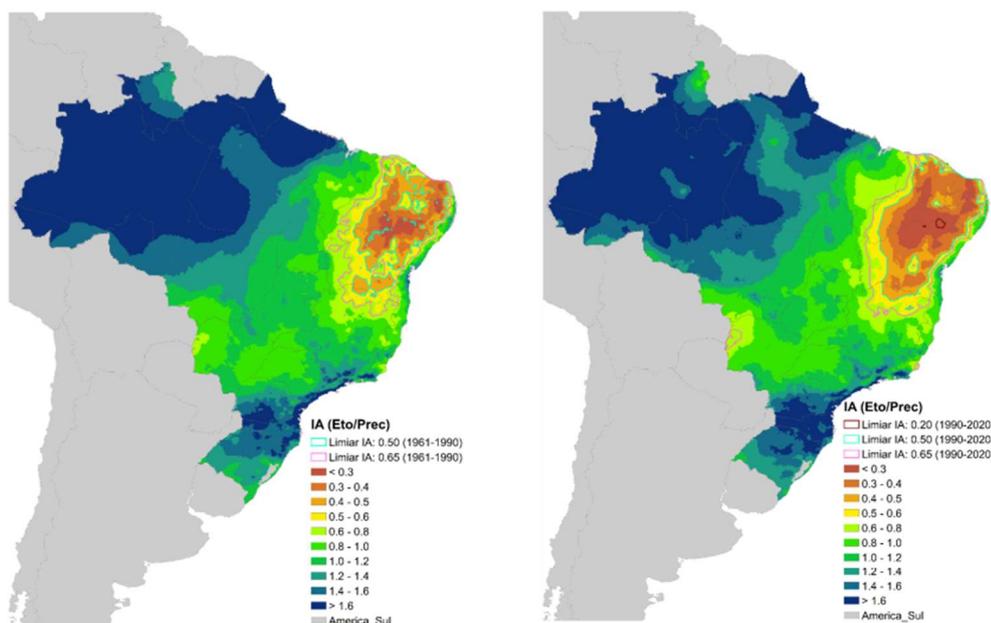
Esse panorama, segundo Araújo *et al.* (2023), está diretamente associado ao crescimento em 390% de matagais, bem como da agricultura e da cobertura não vegetal devido a mudanças no uso da terra. Nesse contexto, os autores defendem que a perda de cobertura vegetal na Caatinga e do SAB é, na verdade, decorrente das intervenções antrópicas, e não de origem climática. O clima, por sua vez, vem agindo apenas como um intensificador das transições entre coberturas florestais e áreas com baixos serviços ecossistêmicos, como solos nus e/ou matagais. É, inclusive, precipitado utilizar a atual distribuição vegetal como parâmetro para estudos de mudanças climáticas, tendo em vista que apenas 11,04% da vegetação natural da Caatinga ainda está intocada de atividades antrópicas, dos quais apenas 4,34% representam uma cobertura florestal (ARAÚJO *et al.*, 2023).

A consequência desses fatores já era observada por Aziz Nacib Ab'Sáber em 1977, antes do comprometimento do país com o combate à desertificação. No seu trabalho intitulado “Problemática da desertificação e da savanização no Brasil intertropical”, ele considerava a reunião das consequências da degradação de terras uma “ulceração” nos tecidos ecológicos regionais (AB’SÁBER, 1977). Ambientes onde a desertificação atinge níveis quase irreversíveis são chamados de Núcleos de Desertificação (ND) e, por definição, são áreas com grandes manchas desnudas, presença ou não de cobertura vegetal rasteira e sinais claros de erosão do solo (PEREZ-MARIN *et al.*, 2012).

Na atual disposição das ASD no Nordeste, destacam-se 4 núcleos de desertificação: Seridó - RN, Cabrobó - PE, Gilbués - PI e Irauçuba - CE. Representadas pelos municípios mais afetados pelo determinado núcleo, essas áreas ilustram modelos terminais do processo de degradação das terras, atuando como foco de uma desertificação crescente dos seus determinados estados.

Recentemente, o Centro Nacional de Monitoramento de Desastres Naturais (CEMADEN) em parceria com o Instituto Nacional de Pesquisas espaciais (INPE) registraram uma nota técnica onde avaliaram a variação do índice de aridez do Brasil (precipitação/evapotranspiração) no período entre 1960 e 2020 (Figura 3). Os dados obtidos e analisados evidenciam um aumento de aridez em todo o país, com exceção da região sul. Foi possível observar que o semiárido teve uma expansão de 75 mil km² a cada década considerada, com uma considerável aceleração do aumento de aridez nas décadas recentes. O estudo constatou, ainda, que, no último período considerado (1990-2020), uma área da região centro-norte da Bahia apresentou um índice de aridez menor que 0,2. Em outras palavras, o Brasil inaugurou seu primeiro território de clima árido (TOMASELLA; CUNHA; MARENGO, 2023).

Figura 3. Comparação entre o mapeamento de áreas suscetíveis à desertificação nas décadas de 1960 e de 2020 no território brasileiro.



Fonte: TOMASELLA; CUNHA; MARENGO (2023).

Sendo o único estado majoritariamente caracterizado pelo bioma Caatinga, o Ceará se destaca por possuir todo o seu território suscetível à desertificação (CGEE, 2016); o núcleo de Irauçuba, por sua vez, foi alvo de diversas pesquisas voltadas aos efeitos da desertificação e recuperação de solos degradados. Destaca-se o livro “Monitoramento da desertificação em Irauçuba”, de Oliveira e Sales (2015), que, dentre outros assuntos, discute a possibilidade de se estudar a recuperação natural das áreas desertificadas do município por meio da técnica de pousio. Essa, por sua vez, se caracteriza por delimitar áreas degradadas que não sofrerão influências antrópicas ou de outros animais, de modo a permitir sua recuperação gradativa (SÁ *et al.*, 2010; OLIVEIRA; SALES, 2015). Em síntese, o pousio dessas áreas pode ser considerado como um processo de sucessão secundária, caracterizado pela colonização de organismos pioneiros em áreas degradadas, que envolvem principalmente microrganismos, e suas associações – com destaque para os líquens –, e plantas pioneiras (BEGON; TOWNSEND; HARPER, 2007).

Desse panorama, destacam-se os indivíduos que estão em maior abundância nas áreas de pousio e, portanto, podem ser considerados como condutores diretos da recuperação do local; em específico, a planta *Mimosa tenuiflora* desponta como a mais abundante e o fator principal para que essas áreas sejam tão homogêneas com relação à sua flora (OLIVEIRA E SALES, 2015). Em contraste, Oliveira *et al.* (2021) e Pereira *et al.* (2021) constataram que essa homogeneidade não se estende à biodiversidade edáfica. Na verdade, na caracterização físico-química e biológica de amostras coletadas de áreas de pousio, constatou-se que os seus solos estão se aproximando, em questão de aspectos físico-químicos e diversidade de microrganismos, dos solos de áreas naturais no mesmo núcleo (OLIVEIRA *et al.*, 2021; PEREIRA *et al.*, 2021).

2.3 Bactérias promotoras do crescimento vegetal e seus mecanismos

2.3.1 Diversidade e seleção de microrganismos pelas plantas

Whipps *et al.* (1988) definiram “Microbioma”, como uma “comunidade microbiana característica” em um “habitat razoavelmente bem definido que possui propriedades físico-químicas distintas” como seu “teatro de atividade”. Essa definição vem sendo revisitada por outros cientistas, como amplamente discutido por Berg *et al.* (2020). No solo, essa biodiversidade engloba organismos procarióticos – bactérias e arqueias –, eucarióticos –

microfauna, algas, protozoários e, se destacando entre todos, os fungos – e até as partículas virais, que desempenham um papel ainda pouco estudado. Dentre tais classificações, a diversidade microbiana de um solo pode atingir um 1 bilhão de células por grama de solo (FIERER, 2017).

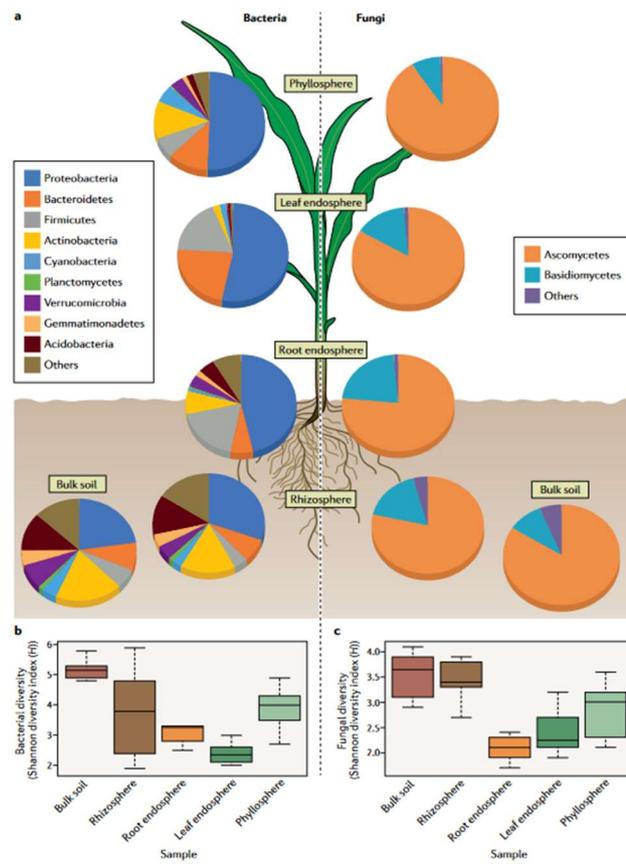
Os altos índices de riqueza e diversidade bacteriana dos solos são um fator fundamental para o bom funcionamento dos ecossistemas terrestres. Fenômenos como a ciclagem de nutrientes, captação e transformação de gases atmosféricos e a promoção da saúde das plantas transformam esse grupo de seres vivos em protagonistas da saúde do solo e, conseqüentemente, do planeta Terra. Ecologicamente, as bactérias podem interagir entre si e com outros organismos edáficos, seja competitivamente ou mutualisticamente; um tipo de interação que desponta como um dos mais importantes para a diversidade atual da biosfera está na associação desses microrganismos com as plantas (BERENDSEN; PIETERSE; BAKKER, 2012).

A região do solo onde ocorrem altas taxas de interações entre microrganismos e plantas é chamada de rizosfera. Ela pode ser denominada como a porção do solo diretamente influenciada por raízes de plantas, isto é, local onde ocorre intensa liberação de moléculas como açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos, os denominados exsudatos. Esse aporte de nutrientes cria um ambiente propício para o crescimento de microrganismos e, portanto, para a interação entre eles e as raízes de plantas. Um importante fator associado a isso, é que a porção mais significativa das bactérias presentes na rizosfera são aquelas que interagem benéficamente com as plantas. Isso se dá porque, apesar de promover um grande enriquecimento dessa região solo, a liberação de exsudatos na rizosfera foi um dos diversos fatores moldados pela seleção natural (ALI *et al.*, 2017; TRIVEDI *et al.*, 2020).

Evolutivamente, as plantas adquiriram a capacidade de liberar nutrientes específicos, reconhecidos por grupos de microrganismos benéficos que, também diante da seleção natural, desenvolveram maior afinidade por eles. Apesar de não ser um processo altamente específico, grande parte dos microrganismos restantes são favorecidos por outros tipos de substratos, gerando, assim, uma competição por recursos dentro da própria rizosfera. Conseqüentemente, nesse ambiente, existe pouco espaço para bactérias fitopatogênicas e até para aquelas patogênicas para os seres humanos - que não expressam interação direta com as plantas, mas que se aproveitam do alto aporte nutricional da rizosfera para atingir outras vias de infecção para o homem. Vale ressaltar que a maioria dos organismos fitopatogênicos são eucariotos, tais como fungos e nematóides (ALI *et al.*, 2017).

Tendo isso em vista, pode-se classificar as bactérias benéficas para plantas em 2 classes: as associativas e as endofíticas – que, por si só, também podem ser classificadas como simbiossntes ou não (Figura 4). As bactérias associativas são aquelas que estão interagindo com as plantas de forma comensal e/ ou mutualística, não estando, obrigatoriamente, associadas ao metabolismo da planta, mas o influenciando diretamente. As endofíticas, por sua vez, são aquelas que vivem dentro dos tecidos internos da planta, interagindo diretamente com seu metabolismo celular. Apesar de poderem assumir um papel parasitário, elas são conhecidas por interagir por meio de comensalismo e mutualismo com os vegetais. Entre elas, as bactérias simbiossntes, são aquelas que desenvolvem uma alta afinidade co-evolutiva com as plantas, sem as quais elas não sobrevivem e vice-versa (TRIVEDI *et al.*, 2020).

Figura 4. Estrutura geral das comunidades bacterianas e fúngicas de vários nichos associados a plantas.



Fonte: Trivedi *et al.* (2020)

No caso das bactérias benéficas, essa classificação é reflexo do tamanho do “lucro” obtido por cada interação. Exemplo disso, são alguns grupos de bactérias diazotróficas que desenvolveram uma relação simbiótica com plantas leguminosas, da família Fabaceae: a

formação de nódulos radiculares que compartimentaliza tais microrganismos e, ainda, os possibilitam fixar nitrogênio atmosférico. Nessa simbiose, as bactérias têm acesso a um grande reservatório de energia, tornando a fixação maior e mais eficiente, e, ainda, garantindo sua sobrevivência e sucesso reprodutivo (FERGUSON *et al.*, 2019). Em todos os casos, bactérias benéficas são envolvidas na promoção do crescimento das plantas, absorvendo e as disponibilizando nutrientes, auxiliando no combate a patógenos e minimizando os efeitos dos estresses abióticos do ambiente (ULLAH *et al.*, 2019).

2.3.2 Fixação Biológica do Nitrogênio

O nitrogênio (N) é um elemento essencial para todos os seres vivos, integrando diversas biomoléculas, tais como as proteínas e os ácidos nucleicos. A demanda por esse macronutriente, entretanto, pode ser vista como incompatível com sua disponibilidade, uma vez que a maioria do nitrogênio presente no planeta reside na atmosfera, em forma de gás nitrogênio (N_2); esse gás, por sua vez, é de difícil assimilação para grande parte da biodiversidade do planeta. Isso se dá por conta da sua ligação covalente tripla, o que o torna quimicamente inerte e biologicamente indisponível. Apenas alguns grupos de procariotos têm a capacidade de retirar esse elemento da atmosfera e disponibilizá-lo de forma acessível no solo, fenômeno chamado de fixação de nitrogênio (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

A fixação biológica de nitrogênio é, resumidamente, o fenômeno de reduzir o gás nitrogênio (N_2) a amônia (NH_3) por vias enzimáticas (AHEMAD; KIBRET, 2014). A transformação de N_2 em formas assimiláveis por seres vivos, em especial as plantas, requer uma energia de ativação extremamente alta, uma vez que a ligação tripla entre os dois átomos de nitrogênio possui energia de 930 kJ/mol (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Tendo em vista a grande importância deste elemento para os seres vivos, a evolução selecionou um aparato enzimático altamente conservado que possibilita tal fenômeno: a nitrogenase.

Esse complexo enzimático, muito estudado e bem descrito, é encontrado em procariotos diazotróficos, principalmente bactérias, localizados no solo e em associação a raízes de plantas. Ele é subdividido em dois componentes centrais: a dinitrogenase-redutase e a dinitrogenase; a primeira é um dímero que possui um centro redox que pode ser oxidado e reduzido por um elétron, já o segundo é um tetrâmero que contém dois cofatores ferrosos importantes para a transferência de elétrons da fixação: o grupo P, contendo ferro, fósforo e enxofre, e o grupo FeMo, que contém ferro, enxofre e um átomo de molibdênio; este último,

que possui papel central na transferência de elétrons, pode ser substituído por átomos de vanádio em algumas espécies bacterianas. Vale destacar que a fonte imediata de elétrons para a redução da dinitrogenase-redutase é, geralmente, a ferredoxina. Assim sendo, com a ajuda de moléculas de ATP, a conformação da dinitrogenase-redutase é alterada, permitindo que ela supere a energia de ligação do N₂ e transfira os elétrons para o gás, formando amônio, que, rapidamente e naturalmente, se reduz a amônia (AHEMAD; KIBRET, 2014; KUYPERS; MARCHANT; KARTAL, 2018; RANA *et al.*, 2020).

Entretanto, algumas limitações podem ser levadas em consideração no processo, dentre as quais se destaca a extrema labilidade de tal enzima frente à presença de oxigênio, podendo ela ter meia vida de 30 segundos em contato com o ar, e a grande necessidade de energia para tal processo (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Muitas bactérias reagiram diante de tal obstáculo reprimindo a fixação de nitrogênio enquanto o oxigênio estivesse presente, outras vivem apenas anaerobicamente e outras adquiriram adaptações que consomem rapidamente o oxigênio quando ele entra na célula. Já alguns grupos de bactérias diazotróficas, como dito anteriormente, desenvolveram uma relação simbiótica com leguminosas, formando nódulos (LINDSTRÖM; MOUSAVI, 2020).

Os nódulos infectados possuem em seu interior uma solução contendo uma heme-proteína com alta afinidade ao oxigênio, a leg-hemoglobina. Assim sendo, o oxigênio que entra no nódulo é rapidamente ligado e a nitrogenase pode atuar livremente, fornecendo grandes estoques de nitrogênio para a planta, que, por sua vez, fornece recursos e condições ótimas para a sobrevivência das bactérias. Esse processo requer um reconhecimento específico entre os microrganismos e as plantas, o qual envolve mecanismos complexos de sinalização e transdução de sinais moleculares (FERGUSON *et al.*, 2019; ROY *et al.*, 2020).

Primeiramente, a planta libera moléculas flavonóides e isoflavonóides, que serão reconhecidas por bactérias diazotróficas e que ativarão a expressão de genes de nodulação. Tais genes irão sintetizar os chamados fatores de nodulação – lipoquitoligossacarídeos – determinantes para a especificidade da planta hospedeira e para a formação dos nódulos. A liberação deles irá induzir alterações físico-químicas nos pelos radiculares da raiz, tais como a sua curvatura, alcalinização do meio, oscilação na concentração de cálcio e a formação do cordão de infecção e do primórdio nodular. Por fim, com a colonização do córtex radicular, as células presentes nele entram em processo de hiperplasia, formando o nódulo *in situ*, o qual é ligado diretamente com o sistema vascular da planta a fim de manter o transporte de fotoassimilados e do amônio sendo produzido (FERGUSON *et al.*, 2019; ROY *et al.*, 2020).

O estudo e o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio, em síntese, tornou-se uma prática sólida e que vem sendo aperfeiçoada gradativamente ao longo dos anos. Em destaque, o uso desses microrganismos como inoculantes foi, e ainda o é, um divisor de águas na melhoria da economia global e, recentemente, tem sido visto e aplicado como uma preciosa ferramenta da agricultura sustentável (SANTOS; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2019).

2.3.3 Solubilização de fosfato

Sem dúvidas, o fósforo também é um macronutriente vital para os organismos vivos, sendo o segundo mais importante para as plantas. Dentre seus papéis metabólicos, se destacam o transporte de energia via nucleosídeos fosfatados, transdução de sinais, composição de biomoléculas - tais como os ácidos nucleicos - e os processos de respiração e fotossíntese (ZAIDI *et al.*, 2009).

No solo, esse elemento se origina a partir de rochas e por meio de diversos fenômenos geoquímicos que disponibilizam, principalmente, íons fosfato (PO_4^{-3}) na solução do solo. Essa forma solúvel é a principal forma de absorção de fósforo pelas plantas, sendo, futuramente, devolvida ao solo por meio da decomposição de tal planta e dos consumidores de sua teia trófica. Entretanto, ele também pode seguir outro caminho: o de fixação. Esse percurso ocorre com a sua estabilização a minerais de argila ou à sua precipitação diante de óxidos de ferro e alumínio, dependendo, assim, do tipo, localização e saúde do solo em que se encontra; solos velhos e intemperizados tendem a apresentar uma alta fração de fósforo insolúvel, por exemplo (CARDOSO & ANDREOTE, 2016).

Diante do exposto, conclui-se que o fósforo é um elemento pouco móvel e presente em formas não-lábeis, quando em solos argilosos e com abundância de óxidos, ficam imobilizados e indisponíveis para as plantas. Em contrapartida, os microrganismos do solo desempenham um importante papel na reversibilidade dessa situação. Eles estão envolvidos no processo de solubilização e mineralização desse elemento no solo e, portanto, participando ativamente do seu ciclo biogeoquímico. Esses microrganismos o fazem por meio da produção e liberação de ácidos orgânicos e inorgânicos, dentre os quais se destacam os ácidos láctico, glicólico, cítrico, oxálico, málico, succínico, nítrico, sulfúrico e carbônico. Tais ácidos, associados a seus prótons, dissolvem o material fosfatado ou quelam cátions associados ao ânion fosfato, disponibilizando-o em formas absorvíveis por seus produtores e por plantas presentes no sítio de solubilização. Vale ressaltar, também, que a qualidade do ácido em questão

importa mais do que sua quantidade na solubilização desse elemento (KHAN; ZAIDI; WANI, 2007; ZAIDI *et al.*, 2009).

Além disso, alguns microrganismos possuem a capacidade de regular o método de absorção de fósforo por plantas, tais como a liberação de fitormônios – aumentando a área de contato para absorção com o crescimento da raiz – e o estímulo à excreção de ácidos orgânicos, íons hidrogênio, à produção de sideróforos e à produção de enzimas fosfatases (AHEMAD; KIBRET, 2014).

2.3.4 Solubilização de Potássio

Depois do nitrogênio e do fósforo, o potássio é o nutriente mais importante para o crescimento, desenvolvimento e em diversas rotas metabólicas vegetais, tais como na fotossíntese, síntese de amido, redução de nitrato, degradação de açúcares, condutância estomática e ativação de diversas enzimas. Esse elemento é encontrado de diversas formas no solo, tais como o potássio mineral, potássio trocável e não-trocável e o potássio solúvel, entretanto, o potássio mineral compõe de 90 a 98% desse elemento no solo, não sendo absorvível pelas plantas (ETESAMI; EMAMI; ALIKHANI, 2017).

Assim como no caso do fósforo, já é certo que existem diversas bactérias que possuem capacidade de solubilizar o potássio mineral, sendo a maioria do ambiente rizosférico. Assim como as P-solubilizadoras, essas bactérias liberam ácidos orgânicos – sendo os mais conhecidos o cítrico, o málico e o acético – e diminuem o pH do ambiente, resultando na solubilização de compostos ricos em potássio, tais como o feldspato e os silicatos de potássio. Algumas bactérias endofíticas também são conhecidas por produzir enzimas, como fosfatases e hidrolases, que rompem as ligações entre o potássio e outros minerais do solo. Em outros casos, algumas bactérias também têm sistemas de troca iônica presentes em suas membranas plasmáticas, favorecendo a liberação de íons de potássio no solo e aumentando a sua disponibilidade para plantas (MEENA; MAURYA; VERMA, 2014).

2.3.5 Produção de fitormônios

Fitormônios são compostos químicos naturais que regulam os diversos aspectos da história de vida das plantas, tais como seu desenvolvimento, reprodução e respostas a estímulos ambientais. Exemplos de fitormônios para as plantas são as auxinas, giberelinas e citocininas,

que participam, dentre outras atividades, da divisão celular, da formação de raízes, brotos, flores e frutos, dos tropismos, da diferenciação de tecidos e da regulação da senescência. Já outros hormônios, como o etileno e os ácidos abscísico, jasmônico e salicílico, estão, principalmente, relacionados à resposta contra estresses bióticos e abióticos das plantas. Apesar de serem produzidos diante de necessidades e situações específicas, os fitormônios também atuam como uma rede de comunicação que regula todos os aspectos listados anteriormente (BARI; JONES, 2009).

Muitas bactérias são conhecidas por participarem ativamente da produção de fitormônios. Essa contribuição é protagonizada pela própria produção de análogos de hormônios, gerados por vias metabólicas que utilizam precursores simples e os catalisam em fitormônios bacterianos. Ao serem reconhecidos e captados pelas plantas, esses compostos atuam de modo semelhante ou igual aos que são produzidos por ela própria. Dentre todos os citados anteriormente, o ácido indol-3-acético, principal tipo de auxina, é o fitormônio mais estudado no contexto microbiano. Em síntese, bactérias que o produzem, possuem em suas vias metabólicas enzimas que convertem aminoácidos, como o L-triptofano, no ácido indol-acético (AHEMAD; KIBRET, 2014; SPAEPEN; VANDERLEYDEN; REMANS, 2007).

Outros mecanismos envolvidos na regulação hormonal de plantas por bactérias é o estímulo e ativação da produção de fitormônios. Nessa interação, o metabolismo das plantas pode ser influenciado, estimulando-as a produzir seus hormônios em maior quantidade. Além disso, muitas endofíticas influenciam a expressão gênica da produção dessas moléculas; a ativação ou deleção de genes de produção de fitormônios pode ser consequência de sinais enviados às plantas pelas bactérias em resposta a estímulos ambientais. Exemplo disso é a deleção do hormônio etileno por BPCP (Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas) produtoras da enzima ACC-deaminase. Bactérias que possuem tal enzima, clivam o precursor do etileno, o ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), impedindo as plantas de produzir tal hormônio e, conseqüentemente, seus efeitos diante de estresses ambientais, que incluem a senescência, perda de folhas e redirecionamento de energia para a produção de frutos (BHATTACHARYYA; JHA, 2012; PENROSE; GLICK, 2003).

2.3.6 Produção de sideróforos

Sideróforos são biomoléculas orgânicas de baixo peso molecular secretadas por diversas espécies microbianas. Sua alta afinidade pelo elemento ferro faz com que essas

moléculas sejam cruciais na captação de tal metal, principalmente onde sua disponibilidade é baixa ou de difícil acesso. A produção de sideróforos bacterianos inicia-se quando a célula microbiana percebe a escassez de ferro no ambiente. Após a liberação dessas moléculas no mesmo local, o ferro presente é rapidamente quelado por elas, gerando um complexo ferro-sideróforo que é facilmente reconhecido por receptores das membranas plasmáticas de bactérias; isso permite a sua fácil captação e assimilação pelo microrganismo (AHEMAD; KIBRET, 2014; HIDER; KONG, 2010).

Se o ambiente de liberação do sideróforo for a rizosfera ou os próprios tecidos vegetais, no caso de bactérias endofíticas, o ferro quelado também estará disponível em maior quantidade para as plantas associadas. A principal forma em que o ferro é encontrado no ambiente é a de Fe^{3+} , entretanto é bastante comum que ele esteja associado a hidróxidos ou oxihidróxidos, tornando-o insolúvel. Nesse contexto, essas biomoléculas se ligam aos compostos minerais ou orgânicos que detêm esse elemento e agem reduzindo-o a Fe^{2+} , que, por sua vez, será transportado tanto para a célula microbiana quanto estará acessível para as plantas associadas. Isso porque complexo ferro-sideróforo é altamente solúvel, facilitando a absorção do metal (AHEMAD; KIBRET, 2014).

Além disso, estudos sugerem a relação da produção dessas biomoléculas com a redução de estresses abióticos e bióticos nas plantas. A alta solubilidade de sideróforos quelantes permite que o estresse sofrido pelas plantas em solos contaminados por metais pesados seja amenizado (AHEMAD; KIBRET, 2014). Além disso, a produção desses compostos confere uma vantagem competitiva sob a aquisição do ferro, tendo como consequência um controle sob os parasitismos sofridos pela planta (BENEDUZI; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2012).

2.3.7 Produção de exopolissacarídeos

Bactérias produzem exopolissacarídeos (EPS) por diversas razões, destacando-se aquelas em resposta a estímulos ambientais. O exemplo central disso é que os EPS são uma das principais matérias primas dos biofilmes bacterianos: essa organização microbiana, que mantém comunidades complexas ligadas a uma matriz extracelular, é determinante para a adesão e comunicação intercelular e para a colonização das bactérias nos mais diversos ambientes. Além disso, os EPS também funcionam como barreiras físicas e químicas contra dessecação, radiação UV, variações de temperaturas, pressões osmóticas, presença de

substâncias tóxicas e até mesmo como resistência a patógenos e predadores (KUMAR; MODY; JHA, 2007).

Muito do que se discute sobre as comunidades bacterianas pode se aplicar para a interação bactéria-planta. Ainda no ambiente externo à planta, seja na rizosfera ou no solo rizosférico, os EPS podem se comportar como agentes aglutinantes, auxiliando na agregação das partículas de solo. Essa agregação tem como consequência a maior porosidade do solo, permeabilidade e retenção de água, diminuindo o estresse hídrico sofrido pelas plantas, em especial diante de ambientes com baixos índices de pluviosidade – também atuando como isolante térmico diante de áreas com alta variação de temperatura. Além disso, a presença de exopolissacarídeos diminui o estresse osmótico do solo, se ligando a agentes reativos de íons Na^+ (BHAGAT *et al.*, 2021; GAURI; MANDAL; PATI, 2012).

No ambiente vegetal, a consequente aderência e meio de comunicação química dos EPS podem auxiliar na própria colonização bacteriana na superfície ou nos tecidos internos de raízes e, conseqüentemente, no estabelecimento das relações mutualísticas entre elas. A presença dessas biomoléculas também facilita a absorção e transporte de nutrientes presentes no solo e como uma ferramenta de regulação hormonal, facilitando o crescimento e sucesso de raízes. Além disso, exopolissacarídeos também cumprem seu papel na proteção da raiz contra agentes patogênicos e substâncias tóxicas, atuando como barreiras físicas e químicas, respectivamente (BENEDUZI; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2012; BHAGAT *et al.*, 2021).

2.3.8 Antagonismo contra fitopatógenos

Além da já exposta estratégia de competição por recursos no solo e por espaço nas raízes das plantas, BPCP possuem outros métodos de suprimir o crescimento e a atividade patogênica de certos grupos contra as plantas; o principal deles é a produção de metabólitos antimicrobianos. Historicamente, bactérias do solo são conhecidas por produzirem tais compostos, que englobam antibióticos, enzimas, toxinas e outros metabólitos secundários. Esses compostos podem tanto agir como microbicidas quanto microbiostáticos, afetando a estrutura celular dos patógenos, afetando sua síntese proteica, inibindo a expressão de genes, até mesmo, interferindo na esporulação/germinação de esporos gerados por tais agentes (BENEDUZI; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2012).

Ademais, algumas BPCP também agem diretamente no sistema de defesa das plantas. Em especial, bactérias endofíticas utilizam a ligação íntima com as plantas para enviar

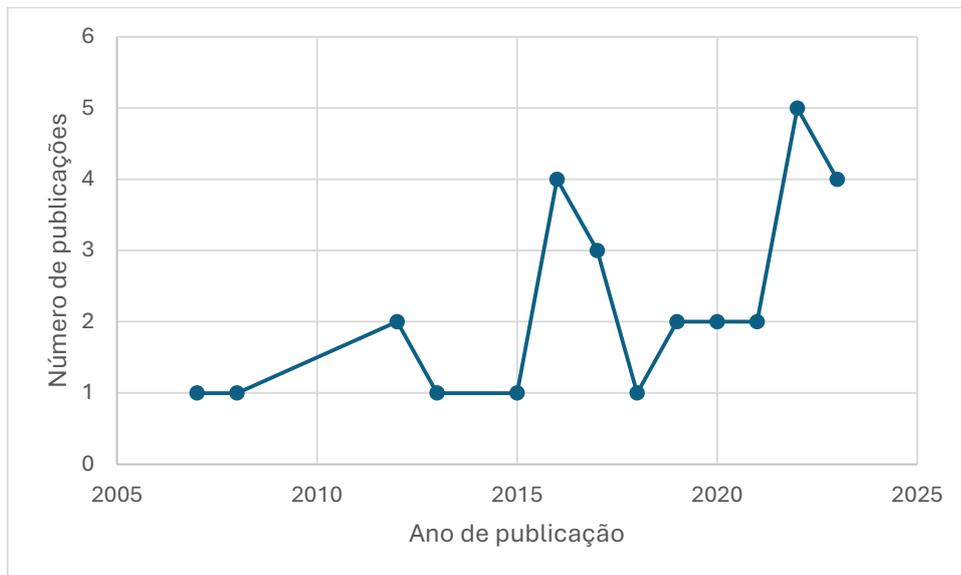
sinalizadores químicos que ativam resposta de resistência sistêmica ou local das plantas. Além disso, parte dessas respostas podem não ser inatas, mas educadas pelas próprias BPCP. Nesse sentido, a diversidade dessas propriedades, e das citadas anteriormente, desempenham um papel crucial na saúde das plantas e na regulação e equilíbrio dos ecossistemas como um todo (PLIEGO *et al.*, 2011).

2.4 Bactérias endofíticas de plantas pioneiras e de *Mimosa tenuiflora*

O conhecimento sobre bactérias endofíticas ainda se apresenta em seus estágios iniciais, quando comparado às rizosféricas. E o conhecimento acerca de bactérias endofíticas associadas a plantas pioneiras, como a *M. tenuiflora*, é praticamente inexistente. Para melhor entendimento disso, uma pesquisa bibliográfica na plataforma Scopus® (<https://www.scopus.com/>) foi realizada em janeiro de 2024, através do campo “Documentos”, utilizando os filtros “Título de artigo”, “Palavras-chave” e “Resumo”. Para a seleção de artigos, executou-se uma busca utilizando os seguintes termos e operadores booleanos: "plant-associated bacteria" OR "endophytic bacteria" OR "microsymbiont*" OR "symbiont bacteria" OR "plant growth promoting" AND "pioneer* plant*" OR "mimosa tenuiflora" OR "mimosa hostilis". Os resultados obtidos foram analisados na aba “Analyse results” do próprio site e por meio de um arquivo de formato .cvs, que foi exportado e executado no Microsoft Office Excel (v. 2021) e no software VOSviewer (v.1.6.20).

Nos parâmetros de busca citados anteriormente, foram obtidos 29 documentos, dentre os quais 27 artigos científicos, 1 capítulo de livro e 1 documento de Conferência. De acordo com a base de dados obtida, as publicações acerca do assunto se iniciaram a partir do ano de 2005, intensificando-se a partir de 2016, quando, até 2023, foram publicados 26 documentos (89,6%). O ano de 2022 foi o que apresentou o maior número de artigos (cinco) (Figura 5).

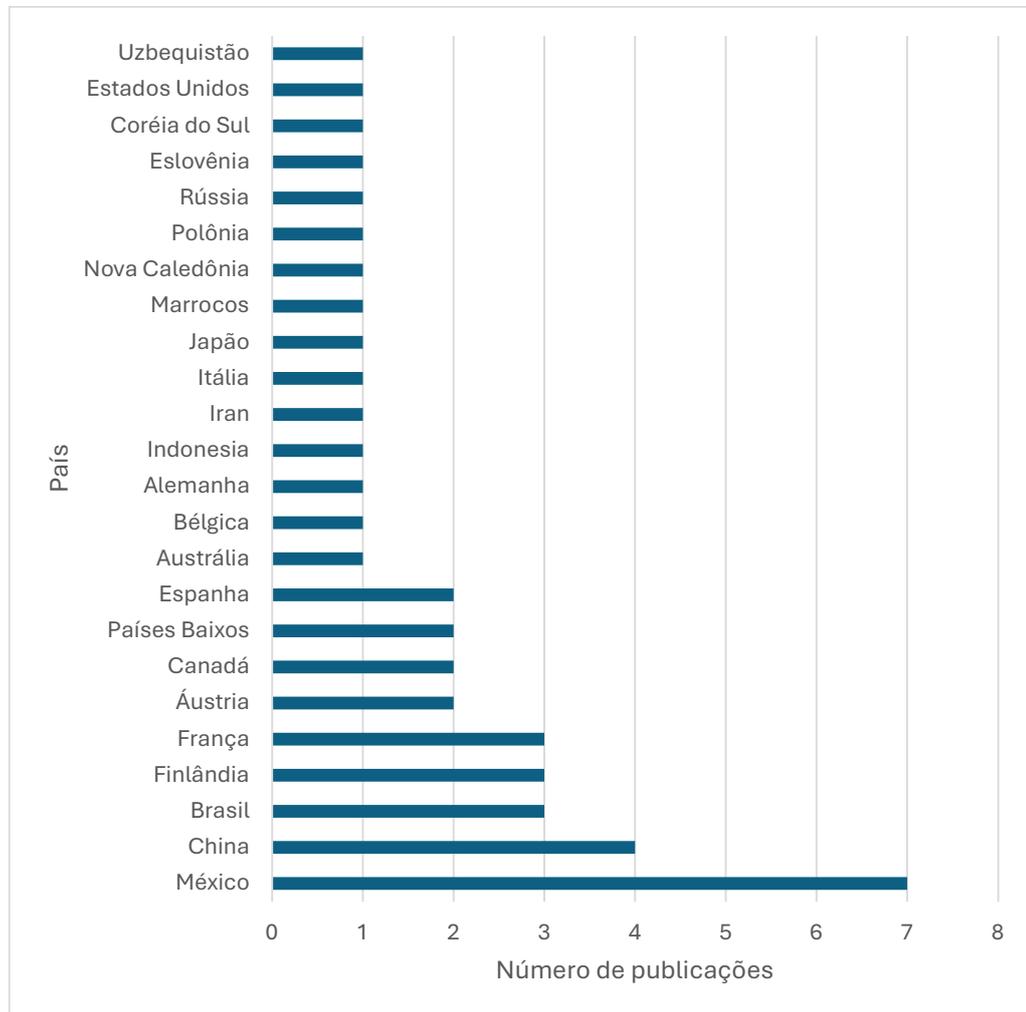
Figura 5. Número de publicações por ano sobre bactérias endofíticas de plantas pioneiras ou de jurema preta



Fonte: elaborado pelo autor com dados de Scopus®.

Com relação aos territórios de pesquisa do assunto, o México foi o país com maior contribuição, publicando 7 dos 29 artigos sobre o tema, seguido da China, com quatro (04) (Figura 6). O Brasil, até agora, contribui para o tema com três (03) artigos publicados, sendo todos eles relacionados à planta pioneira *Mimosa tenuiflora*.

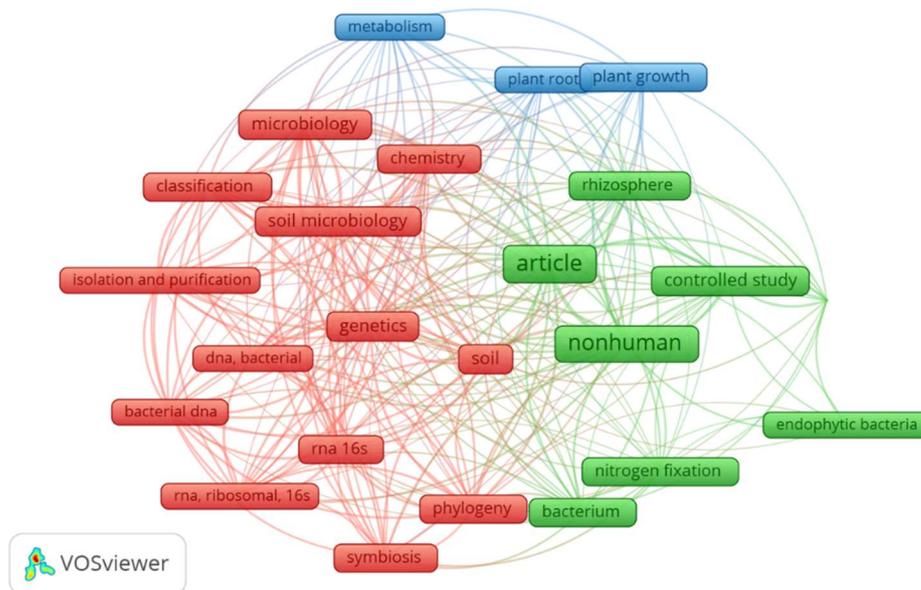
Figura 6. Publicações relacionadas a bactérias endofíticas de plantas pioneiras ou de jurema preta por país de origem.



Fonte: Elaborado pelo autor com dados de Scopus®.

Um total de 549 palavras-chave foram identificadas nesses documentos, das quais 24 se destacaram com o número mínimo de coocorrência entre elas igual a 5 (Figura 7). Nessa análise, se destacaram 3 clusters e as palavras-chave “article” e “non human” (se tratando do assunto de bactérias não-humanas). O alto número de palavras-chave em contraste com a baixa coocorrência sugere uma alta variedade de assuntos e objetivos abordados nos documentos. Apesar de não co-ocorrentes nas condições estabelecidas, é interessante ressaltar que também foram observadas palavras-chave relacionadas à aplicação dessas bactérias como ferramentas de recuperação ambiental, tais como “recovery” (recuperação) e “degradation” (degradação).

Figura 7. Mapa bibliométrico de frequência de palavras-chave utilizadas em pesquisas bactérias endofíticas de plantas pioneiras e/ou *Mimosa tenuiflora*.



Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o software VOSviewer (v.1.6.20) com dados obtidos no Scopus®.

A Tabela 1 evidencia os 10 principais artigos publicados sobre o assunto, baseado no número de citações obtidas por eles. O documento que se destaca é o de Rijavec e Lapanje (2016), que investigou o papel do ácido cianídrico produzido por rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, na suposta capacidade de controle de patógenos de plantas. Ao contrário do que se esperava, essa propriedade não estava correlacionada aos efeitos observados no controle de patógenos, mas sim em processos geoquímicos no substrato, como a quelação de metais, indiretamente aumentando a disponibilidade de fósforo. Para tanto, eles utilizaram como modelo a planta pioneira *Rumex alpinus*, cultivando-a em substrato de granito e comparando o processo com o crescimento de milho (*Zea mays*) (RIJAVEC; LAPANJE, 2016).

Tabela 1. Ordenação dos 10 artigos mais citados relacionados a bactérias endofíticas de plantas pioneiras e/ou *Mimosa tenuiflora*.

Ano	Título	Periódico	1º autor(a)	Citações
2016	Hydrogen cyanide in the rhizosphere: Not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate	Frontiers in Microbiology	Tomaz Rijavec	174
2012	Growth promotion of <i>Xanthium italicum</i> by application of rhizobacterial isolates of <i>Bacillus aryabhatai</i> in microcosm soil	Journal of Microbiology	Sol Lee	57
2016	Bacterial endophytes isolated from plants in natural oil seep soils with chronic hydrocarbon contamination	Frontiers in Microbiology	Rhea Lumactud	53
2016	Genetic diversity and community structure of rhizobia nodulating <i>Sesbania cannabina</i> in saline-alkaline soils	Systematic and Applied Microbiology	Yan Lin	48
2017	Plants assemble species specific bacterial communities from common core taxa in three arcto-alpine climate zones	Frontiers in Microbiology	Manoj Kumar	45
2012	Endophytic bacteria of the rock-dwelling cactus <i>Mammillaria fraileana</i> affect plant growth and mobilization of elements from rocks	Environmental and Experimental Botany	Blanca Lopez	45
2021	Root-associated (rhizosphere and endosphere) microbiomes of the <i>Miscanthus sinensis</i> and their response to the heavy metal contamination	Journal of Environmental Sciences (China) International	Xiaoxu Sun	44
2018	Seed endophyte microbiome of <i>crotalaria pumila</i> unpeeled: Identification of plant-beneficial methylobacteria	Journal of Molecular Sciences	Ariadnas Sánchez-López	44
2015	Microscopic processes ruling the bioavailability of Zn to roots of <i>euphorbia pithyusa</i> L. Pioneer plant	Environmental Science and Technology	Daniela Medas	39
2020	Plant growth-promoting potential of bacteria associated to pioneer plants from an active volcanic site of Chiapas (Mexico)	Applied Soil Ecology	Clara Rincón-Molina	28

Fonte: elaborado pelo autor com dados de Scopus®.

Com relação ao isolamento de bactérias endofíticas de plantas pioneiras, se destacam os estudos produzidos por Lumactud *et al.* (2016), que avaliaram as comunidades bacterianas endofíticas de quatro plantas pioneiras, *Achillea millefolium*, *Solidago canadensis*, *Trifolium aureum* e *Dactylis glomerata*, que crescem abundantemente em solos altamente contaminados por hidrocarbonetos. Os autores isolaram 190 endofíticos e mostraram que mais de 50% dos isolados degradavam octanol, tolueno, naftaleno, querosene ou óleo lubrificante, provando o potencial dessas plantas pioneiras como fitorremediadoras (LUMACTUD *et al.*, 2016).

A diversidade de endofíticos isolados do cacto pioneiro *Mammillaria fraileana* foi avaliada por Lopez *et al.* (2012), investigando se essas bactérias auxiliariam no estabelecimento dessa planta em substratos rochosos. Quando essas bactérias foram inoculadas em plântulas cultivadas nessas condições, constatou-se que essa associação pode estimular o crescimento de *M. fraileana* ao mobilizar elementos da rocha, o que pode aumentar a atividade fotossintética e a acumulação de biomassa. Os autores chegaram à conclusão de que através da colonização e estabelecimento dessas plantas pioneiras em associação com inóculos de sua microbiota endofítica, que ocorre, literalmente, a criação de solo, facilitando a colonização por outras espécies do deserto, contribuindo para a diversidade de terras secas (LOPEZ *et al.*, 2012).

Já Ricón-Molina *et al.* (2020) deram enfoque em bactérias endofíticas de plantas pioneiras naturais de uma área próxima à cratera do vulcão El Chichón, em específico a pteridófita *Cheilanthes aemula* e a gramínea *Andropogon glomeratus*. Os isolados, 80 endofíticos e 128 provenientes de solo rizosférico, foram avaliados quanto a resistência a estresses abióticos – salinidade, pH, temperatura e metais pesados – e os promissores foram selecionados quanto às suas propriedades de promoção do crescimento vegetal. Além disso, esses isolados impactaram positivamente o crescimento de mudas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), trazendo a conclusão de que diversidade bacteriana associada às plantas pioneiras podem contribuir para a sua adaptação e proliferação no vulcão ativo (RINCÓN-MOLINA *et al.*, 2020).

Com relação aos estudos de bactérias endofíticas de jurema preta, foram obtidos três (03) artigos científicos. Silva *et al.* (2017) avaliaram a taxa de fixação de nitrogênio de áreas do semiárido nordestino com diferentes abundâncias de plantas leguminosas para avaliar se a ela era influenciada pela disponibilidade de fósforo. Foram cultivadas mudas de *M. tenuiflora* em solos dos fragmentos estudados fertilizados com fósforo. Os autores chegaram à conclusão de que a FBN das áreas foi baixa por conta da baixa disponibilidade de fósforo

presente no solo, que acarretou a baixa colonização de nodulação de simbioses bacterianas (SILVA *et al.*, 2017).

O trabalho de Dias *et al.* (2021) consistiu em identificar, em nível molecular e simbiótico, as cepas presentes nos nódulos das plantas cultivadas nesse solo. Os autores obtiveram vinte cepas similares ao gênero *Paraburkholderia* e duas ao gênero *Rhizobium*. Os resultados indicaram uma alta diversidade genética e eficiência de nodulação por rizóbios associados à *M. tenuiflora* (DIAS *et al.*, 2021).

Da Silva Santos *et al.* (2023) investigaram o potencial de BPCP na melhoria do crescimento do sorgo (*Sorghum bicolor* L.) em condições de seca. Para tanto, foram isoladas bactérias endofíticas provenientes dos nódulos de raízes leguminosas nativas do semiárido brasileiro, sendo utilizadas aquelas identificadas com rizóbios pela técnica de PCR utilizando os primers para os genes *nifH* e *nodC*. Três isolados provenientes de *M. tenuiflora* foram inoculados em sementes e raízes de sorgo e as sementes cultivadas em condições de água favorável (80% disponível) e seca (40% disponível). Os autores obtiveram um melhoramento no crescimento de plantas de sorgo quando inoculadas com as bactérias testadas. Um dos destaques para a atenuação dos efeitos de seca foi a bactéria MTBV77 de jurema preta (DA SILVA SANTOS *et al.*, 2023).

3. JUSTIFICATIVA

A recuperação de áreas degradadas deve seguir, dentre outras práticas, o plantio de vegetais que auxiliem na recuperação do solo, diminuindo sua erosão, amenizando as condições abióticas adversas e adicionando recursos para tal ambiente. Sendo a jurema preta uma planta pioneira e atendendo tais necessidades, os microrganismos associados a ela podem ter um importante papel no sucesso dessa tarefa. Entretanto, o conhecimento acerca da microbiota endofítica de jurema preta ainda é escasso, tanto em vista das suas propriedades de promoção do crescimento vegetal, quanto da diversidade funcional em resposta a diferentes níveis de degradação ambiental, o que justifica a relevância dessa pesquisa. Ressalta-se, ainda, a possibilidade de utilizar esses microrganismos como inoculantes para acelerar a recuperação de áreas degradadas, tornando este estudo relevante sob os pontos de vista ecológico e biotecnológico.

4. HIPÓTESES

4.1. A microbiota endofítica das raízes de *Mimosa tenuiflora* é influenciada pelo nível de degradação dos solos, resultando na acumulação natural de endófitos especializados na sobrevivência da planta sob estresse hídrico e escassez de nutrientes, característicos de áreas suscetíveis a desertificação (ASD) no semiárido brasileiro.

4.2. A diversidade de endofíticos de Caatinga nativa difere na composição taxonômica e função de promoção do crescimento de plantas (PCP), quando comparados às áreas em recuperação e desertificada.

4.3. Endofíticos PCP de plantas pioneiras, representadas por *M. tenuiflora*, são candidatos ideais em formulações de bioinoculantes para acelerar o processo de sucessão ecológica e, conseqüentemente, a recuperação de ASD.

5. OBJETIVOS

5.1 Gerais

Isolar e caracterizar bactérias promotoras do crescimento de plantas da microbiota endofítica de raízes de *Mimosa tenuiflora*, visando obter um consórcio para ser usado como inoculante para acelerar a restauração de áreas degradadas da Caatinga.

5.2 Específicos

- Isolar bactérias a partir das raízes de *Mimosa tenuiflora* de áreas com diferentes graus de degradação;
- Caracterizar as propriedades dessas bactérias quanto à produção de amônia, auxina, sideróforos e exopolissacarídeos, capacidade de solubilizar fosfato e potássio; e potencial antagônico contra um fitopatógeno;
- Selecionar isolados promissores para a formulação de um consórcio bacteriano;
- Identificar os isolados promissores selecionados por técnicas moleculares.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Descrição da área de coleta – Irauçuba-CE

Este estudo foi realizado no município de Irauçuba, Estado do Ceará, Brasil, em uma Área Suscetível à Desertificação (ASD), a 3°44'S e 39°46'W, 152 metros acima do nível do mar. Esta região está sob a influência do clima semiárido, que se caracteriza por baixa precipitação anual (540 mm.ano⁻¹, média anual), alta temperatura ($\geq 18^{\circ}\text{C}$), escassez de água e secas severas. É caracterizada por solo degradado, com processos erosivos acelerados, com afloramentos rochosos cobertos por caatinga arbustiva aberta e fortemente degradada gerando uma biodiversidade muito empobrecida (CEARÁ, 2010; FUNCEME, 2015). O território de Irauçuba é coberto por um disclímax, caracterizado pelas plantas “marmeleiro” (*Croton sonderianus*), nas melhores manchas de solo, e “jurema preta” (*Mimosa tenuiflora*), em áreas com elevadas restrições físicas e nutricionais do solo (OLIVEIRA; SALES, 2015).

6.2 Coleta e processamento de raízes de Jurema preta (*Mimosa tenuiflora*)

As raízes de jurema preta foram coletadas de plantas na fazenda Aroeira, localizada no município de Irauçuba – CE, a 154 km da capital, Fortaleza. Foram selecionados indivíduos localizados em três áreas distintas: uma de sobrepastoreio, representando um modelo de Caatinga desertificada; duas de mata secundária em equilíbrio, representando uma amostra nativa de Caatinga; e duas cercadas sob um sistema com 23 anos de exclusão de pastagem, representando um modelo de Caatinga em recuperação natural. Em cada uma dessas áreas, foram amostradas raízes finas e superficiais e de cinco indivíduos de *M. tenuiflora*, que foram armazenados em sacos de coleta estéreis e armazenados sob refrigeração.

Após transportadas para laboratório, as raízes foram submetidas a um processo de sanitização, adaptado a partir do método de Araújo *et al* (2021): lavagem em água corrente para retirada de solo rizosférico e de impurezas; submersão em etanol 70% por dois minutos; em hipoclorito de sódio 2% estéril por 30 segundos; lavagem em água destilada estéril; secagem em placa de Petri estéril a 60 °C em estufa de secagem por 10 minutos; e, por fim, exposição à radiação UV por 15 minutos em cabine de segurança biológica. Em seguida, foram submersas em solução de NaCl 0,9% estéril e armazenadas a 30 °C *overnight* para facilitar a extração de microrganismos endofíticos. As raízes foram assepticamente maceradas com o auxílio de gral

e pistilo e seus extratos diluídos seriadamente em NaCl 0,9% estéril. Aliquotas das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} foram inoculadas em duplicata para três diferentes meios de cultura: Tripton-soja (15 g.L⁻¹ de triptona, 5 g.L⁻¹ de peptona de soja, 5 g.L⁻¹ de cloreto de sódio, 15 g.L⁻¹ de ágar, pH 7,3 ± 0,2); Ágar nutriente (3 g.L⁻¹ de extrato de carne, 5 g.L⁻¹ de cloreto de sódio, 5 g.L⁻¹ de peptona, 15 g.L⁻¹ de ágar, pH 7,2 ± 0,2); e ATGE diluído (0,5 g.L⁻¹ de triptona, 0,25 g.L⁻¹ de extrato de levedura, 0,1 g.L⁻¹ de glicose, 15 g.L⁻¹ de ágar, pH 7,0 ± 0,2), a diluição desse último visou a mimetização das condições nutricionais dos solo degradados de Irauçuba. As diluições foram plaqueadas pelo método de *spread plate* e as placas foram incubadas a 30 °C por 48 horas em estufa bacteriológica.

6.3 Isolamento, caracterização e estoque de microrganismos endofíticos

Após se desenvolverem nos meios de cultura, os microrganismos foram diferenciados quanto às suas características morfológicas, permitindo o isolamento de diferentes morfotipos e preparação de culturas puras em ágar nutriente (24 a 48 horas, a 30° C). Os isolados foram caracterizados microscopicamente quanto à forma, arranjo e resposta à coloração de Gram, o que permitiu selecionar apenas as formas bacterianas e classificá-las quanto às suas características e ambiente de origem. Por fim, colônias puras de tais bactérias foram transferidas para tubos contendo caldo nutriente e incubados sob agitação de 150 rpm a 30 °C por 24 horas. A partir dessas culturas foram confeccionados estoques com glicerol a 16%, que foram armazenados em freezer a -20 °C e -80 °C na coleção de culturas microbiológica do Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (LEMBIOTECH), da Universidade Federal do Ceará. Essa coleção também foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob o código AF6A7B3.

6.3 Testes de promoção do crescimento vegetal

6.3.1 Produção de ácido indol-3-acético (AIA)

A análise quantitativa da produção de AIA foi adaptada a partir do método de Bric *et al.* (1991). Todos os isolados foram cultivados em 5 mL de caldo nutriente por 24 h. Dessa cultura foram transferidos 0,5 mL para 5 mL de caldo nutriente enriquecido com 300 µg.L⁻¹ de

L-triptofano, incubado por 48 horas, a 30 °C, 150 rpm. Após esse período, 1 mL de cada cultura foi centrifugado por 10 minutos a 10.000 rpm, 100 µL do sobrenadante foram transferidos para microplacas de 96 poços e adicionou-se 100 µL do reagente de Salkowski (2% de FeCl₃ 0,5M; 35% de ácido perclórico; 63% de água milliQ) e, em seguida, as placas foram deixadas a 20°C e protegidas da luz por 20 minutos (BRIC; BOSTOCK; SILVERSTONE, 1991). Todos os ensaios foram realizados em triplicata e mensurados a 540 nm em leitora de microplaca EPOCH (BioTek, EUA). A produção de AIA bacteriano foi calculada com base em uma curva padrão de 5 a 100 µg mL⁻¹ de AIA sintético.

6.3.2 Produção de amônia

A análise quantitativa da produção de amônia foi adaptada do método de Capuccinno e Sherman (1999). Os isolados foram inoculados em 5 mL de caldo peptona (10 g.L⁻¹ de peptona bacteriológica e 5 g.L⁻¹ de NaCl) e incubados a 30 °C, 150 rpm, por 48 horas. Após esse período, 1 mL de cada cultura foi centrifugado por 10 minutos a 10.000 rpm, 200 µL do sobrenadante foi homogeneizado com 10 µL de reagente de Nessler (MERCK®), em microplacas de 96 poços. Os ensaios foram realizados em triplicata e foi construída uma curva padrão com sulfato de amônio (1 - 10 uM). A reação foi mensurada a 450 nm em leitora de microplaca EPOCH (BioTek, EUA).

6.3.3 Solubilização de fosfato

Para verificar a capacidade dos isolados para solubilizar fosfato, os isolados foram inoculados em meio de cultura Pikovskaya e incubados por 7 dias, a 30 ± 2° C, sob agitação a 180 rpm. A extração de fósforo solúvel após o crescimento foi feita de acordo com o método de Soltanpour & Workman (1979), com adaptações. Para tanto, 1 mL de cada cultura foi centrifugada a 10.000 rpm, por 15 minutos, de onde foram transferidos 200 µL de sobrenadante para novos microtubos e adicionados 800 µL do reagente extrator de fósforo AB-DTPA (*Ammonium bi-carborate diethylene triamine penta acetic acid*). A mistura reacional foi agitada por 15 minutos, resultando em uma solução de fósforo solúvel, que foi mensurado com base no método de quantificação colorimétrica do Ácido Ascórbico, adaptado de Watanabe & Olsen (1965). 20 µL da solução de fósforo solúvel foram transferidos para microplacas de 96 poços em triplicata, onde foram adicionados 50 µL de reagente colorimétrico e 180 µL de água

destilada; a reação foi protegida da luz durante 15 minutos. Os ensaios foram realizados em triplicata com base em uma curva padrão de 50 a 500 $\mu\text{g/mL}$ de KH_2PO_4 e quantificadas a 880 nm em leitora de microplaca EPOCH (BioTek, EUA).

6.3.4 Solubilização de potássio

O teste de solubilização de potássio foi executado em meio Ágar-Aleksandrow (Dextrose 5 g.L^{-1} , Sulfato de magnésio 0,5 g.L^{-1} , Cloreto férrico 0,005 g.L^{-1} , Carbonato de cálcio 0,1 g.L^{-1} , Fosfato de cálcio 2 g.L^{-1} , Silicato de alumina de potássio 2 g.L^{-1} , 15 g.L^{-1} ágar) em placas de Petri. Os inóculos foram feitos em triplicata e as placas incubadas a 28 ± 2 °C, durante 5 dias. Os isolados considerados positivos apresentavam zona clara ao redor da colônia, de onde foram calculados os índices de solubilização (tamanho da colônia em mm/tamanho do halo em mm).

6.3.5 Produção de sideróforos

O teste de produção de sideróforos baseou-se na adaptação do método de Schwyn & Neilands (1987), que mensura a competição por ferro entre o complexo férrico presente no corante CAS (*Chrome Azurol Sulphonate*) e os sideróforos produzidos. Desse modo, os isolados foram cultivados em caldo Nutriente por 48 horas, a 30 ± 2 °C sob agitação a 150 rpm. Em seguida, 1 mL de cada cultura foi centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos e 100 μL dos sobrenadantes foram transferidos para microplacas de 96 poços, em triplicata, onde foram adicionados 100 μL do reagente CAS, preparado de acordo com o método. As amostras foram consideradas positivas quando houve mudança da cor azul para laranja. Para calcular a porcentagem de unidades de sideróforos (PSU), todas as amostras foram mensuradas a 630 nm em leitora de microplaca EPOCH (BioTek, EUA), e os valores foram calculados com base na Equação 1:

$$\text{Porcentagem de unidades de sideróforos (PSU)} = \left(\frac{A_r - A_a}{A_r} \right) \times 100$$

(Equação 1)

Onde: A_r = Absorbância de referência (caldo nutriente estéril + CAS) e A_a = Absorbância da amostra (SCHWYN; NEILANDS, 1987).

6.3.6 Produção de exopolissacarídeos

Para o teste de produção de exopolissacarídeos foi utilizado o método de Paulo *et al.* (2012), adaptado. Os isolados foram ativados em caldo Nutriente por 48 h a 30 ± 2 °C, 150 rpm. Em seguida, 50 µL foram retirados das culturas e transferidos para discos de papel padronizados (5 mm de diâmetro), dispostos em placas de petri contendo meio ATGE enriquecido de glicose (15 g.L^{-1} ágar, 5 g.L^{-1} triptona, $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ extrato de levedura, 20 g.L^{-1} de glicose). Considerando o crescimento bacteriano limitado ao disco, as mucilagens produzidas para além dos discos foram consideradas como potenciais produtores de exopolissacarídeos (PAULO *et al.*, 2012).

6.3.7 Atividade antagonica contra *Fusarium oxysporum*

Para detectar a presença de atividades antagonicas dos isolados contra patógenos, utilizou-se o fungo *Fusarium oxysporum*, uma espécie patogênica para plantas. Com o auxílio de uma agulha, inóculos do bolor foram feitos no centro de placas de Petri contendo meio Batata-Dextrose-Ágar (KASVI®). Após 3 dias de crescimento do fungo, colônias dos isolados bacterianos foram inoculadas de modo adjacente e em triplicata. Após 6 dias, no total, a presença de zonas de inibição do crescimento do *F. oxysporum* foi considerada como resultado positivo.

6.4 Seleção de isolados promissores

A seleção dos isolados promissores se baseou em 3 critérios: i. alta atividade nos testes de produção de amônia, produção de AIA e solubilização de fosfato e de potássio; ii. atividade positiva em todos os testes de promoção do crescimento vegetal; e iii. compatibilidade com outros isolados promissores.

6.5 Teste de compatibilidade em placa

Para avaliar a compatibilidade entre tais microrganismos, foi executado um ensaio de estrias cruzadas em placas de Petri contendo ágar Müeller-Hinton. Desse modo, foram inoculadas estrias centrais dos isolados ativados em caldo Müeller-Hinton por 48 horas a 30 ± 2 °C a 150rpm. As placas foram incubadas nas mesmas condições, mas sem agitação. Após o crescimento das estrias centrais, foram inoculadas estrias laterais, perpendiculares, com os isolados restantes e novamente incubadas. A inibição do crescimento dos isolados laterais foi interpretado como atividade antagonista do isolado central, confirmando a incompatibilidade entre eles.

6.6 Extração de DNA genômico e identificação dos isolados promissores

6.6.1 Extração de DNA genômico

O DNA genômico de cada um dos isolados promissores foram extraídos com base no método de Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB 2%). Os isolados foram cultivados em caldo nutriente por 18 horas a 30 °C sob agitação de 150 rpm. A cultura foi centrifugada a 10.000 rpm por 5 minutos e a biomassa precipitada foi ressuspensa em 600 µL do tampão de extração CTAB 2% (CTAB 2%; NaCl 1,4M; EDTA 20mM; Tris-HCl 100mM; Ph 8,0). Após homogeneização, a solução foi incubada a 60 °C, *overnight*, em termomixer, sem agitação. No dia seguinte, foram adicionados 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico 24:1 aos tubos, que, após homogeneização, foram centrifugados por 10 minutos a 12.000 rpm. Em seguida, a fase aquosa da mistura (superior) foi coletada e transferida para novos tubos, onde foram adicionados 2/3 do volume coletado de isopropanol 100%. Os tubos foram homogeneizados e centrifugados por 10 minutos a 12.000 rpm, gerando um sobrenadante, que foi descartado, e um precipitado, ao qual foram adicionados 500 µL de etanol 70% gelado. A mistura foi homogeneizada com o auxílio de uma ponteira, o tubo foi levado à centrífuga por 5 minutos a 12.000 rpm e seu sobrenadante foi descartado. Após total evaporação do etanol residual, o DNA foi ressuspensa em 30 µL de tampão Tris-HCl (10 mM10mM, pH 8,0). A qualidade e concentração do DNA extraído foi avaliada pela leitura das amostras em Nanodrop ND100 (Nanodrop, Wilmington, DE, EUA).

6.6.2 Amplificação do gene RNA ribossomal 16S

Para a amplificação do gene 16S do rRNA foram utilizados os primers 27F (5'AGA GTTTGATCMTGGCTCAG – 3') e 1525R (5'-AAGGAGGTGWTCCARCCGCA-3') ou os primers 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') e 1389R (5'-ACGGGCGGTGTGTACAAG-3'). A Reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction - PCR) foi realizada em termocilador Eppendorf Mastercycler (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) em uma reação de 25µL, onde foram adicionados 0,5 µM de cada primer, 1X de tampão GoTaq (Promega, EUA), 3,0 mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), 0,2 mM de dNTPs, 1U de DNA polimerase e 10 ng de DNA; o volume final de 25 µL foi completado com água para PCR. Os protocolos de amplificação para os iniciadores utilizados estão indicados na Tabela 2.

Quadro 1. Protocolo do programa de amplificação para os iniciadores 27F/1525R e 63F/1389R utilizados na reação de PCR.

Iniciadores	Desnaturação inicial	Ciclos	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão final
27F/1525R	94°C/3min	30	94°C/1min	55°C/1min	72°C/2min	72°C/8min
63F/1389R	95°C/2min	30	95°C/1min	55°C/30s	72°C/1min	72°C/10min

O resultado da amplificação e o tamanho da sequência de interesse foram analisados através de eletroforese em gel de agarose 1% e utilizando corante SYBRTM safe para visualização. O gel foi corrido em tampão Tris Acetato EDTA (TAE) 0,5X por 25 minutos a 100 V e, em seguida, observado em fotodocumentador, tendo como base de comparação o peso molecular de 1 kb. A amplificação foi confirmada com a presença de bandas na região aproximada a 1500 pb. Por fim, o produto de PCR foi amplificado utilizando o PureLinkTM PCR Purification Kit (Thermo Fisher Scientific).

6.5.3 Análise das sequências e identificação molecular

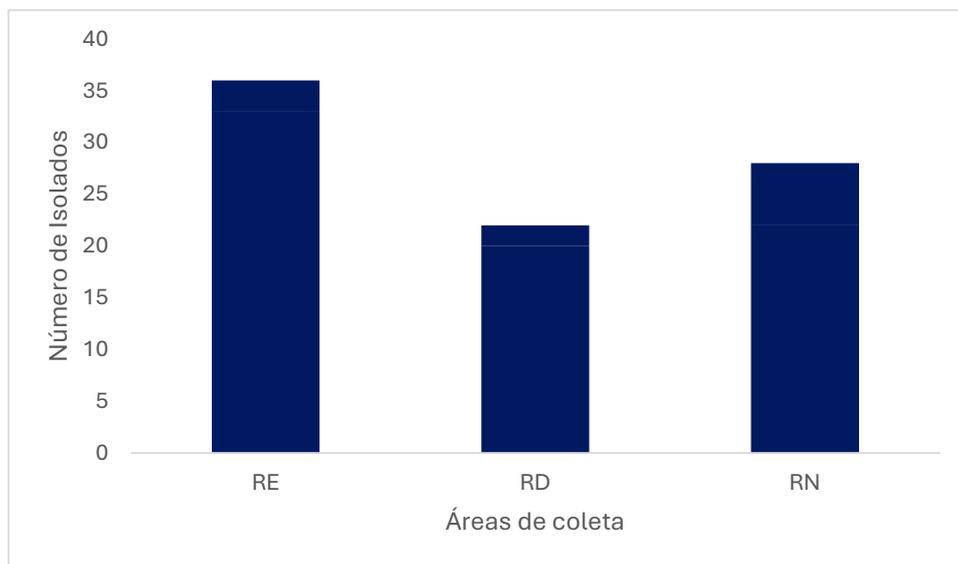
O sequenciamento do DNA foi realizado pela Central de Genômica e Bioinformática (CeGenBio) da Universidade Federal do Ceará através do método de SANGER, utilizando os iniciadores 518F (5'-CCAGCAGCCGCGGTAATAGC-3') e 800R (5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3') como sequências intermediárias e os iniciadores 63F/1389R

ou 27F/1525R como sequências complementares. Para tratar e editar as sequências obtidas, utilizou-se o software Geneious Prime® v.2023.2.1 (www.geneious.com). Após tratada, a sequência *contig* obtida de cada amostra foi usada para a identificação molecular por meio da ferramenta de busca e alinhamento local Basic Local Alignment Search Tool – BLAST, utilizando o banco de dados do NCBI (ALTSCHUL, 1990). Os isolados que obtiveram hit com gêneros de bactérias com identidade maior que 99% foram considerados pertencentes a ele.

7. RESULTADOS

Foram isolados 86 morfotipos microbianos distintos a partir das raízes de jurema preta. Dentre eles, 36, 22 e 28 originaram-se de áreas em processo de recuperação natural (exclusão), áreas desertificadas e áreas de Caatinga nativa, respectivamente (Figura 8). Tais isolados foram codificados de acordo com sua área de origem, sendo BN, bactérias da área nativa, BE, bactérias da área de exclusão e BD, bactérias da área desertificada.

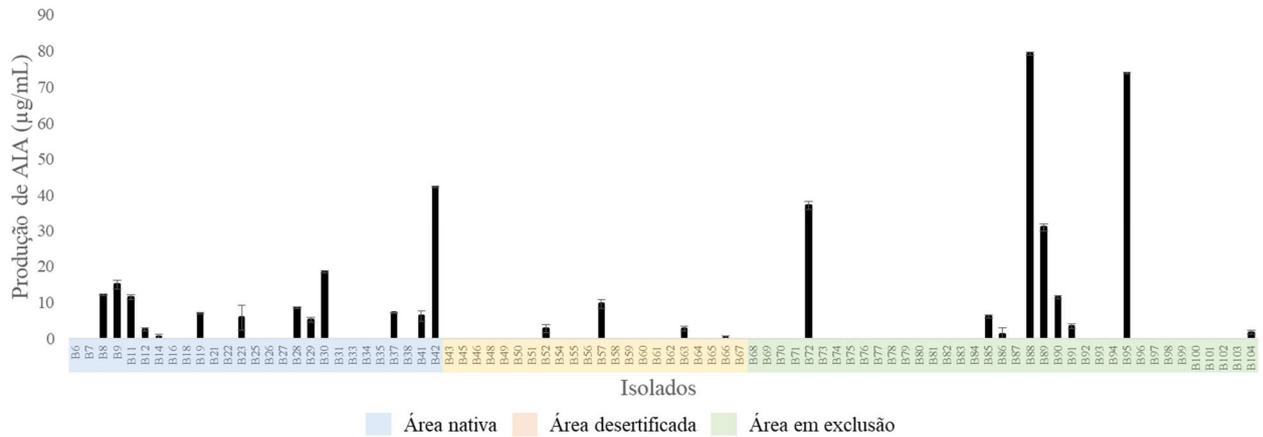
Figura 8. Origem de bactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* provenientes de Irauçuba-CE.



Fonte: elaborada pelo autor. RE: Raízes coletadas em áreas de exclusão; RD: raízes coletadas de áreas em desertificação; RN: rizosferas coletadas em áreas nativas.

Um total de 26 isolados foram identificados como produtores de ácido indol-acético (AIA), sendo 4, 8 e 14 isolados provenientes respectivamente de plantas de áreas desertificadas, de áreas em recuperação natural (exclusão de pastoreio) e de áreas de caatinga nativa (Figura 9). As concentrações de AIA variaram de $0,44 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$ até $79,2 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$, destacando-se para tanto os isolados BN30, BN42, BE72, BE88, BE89 e BE95.

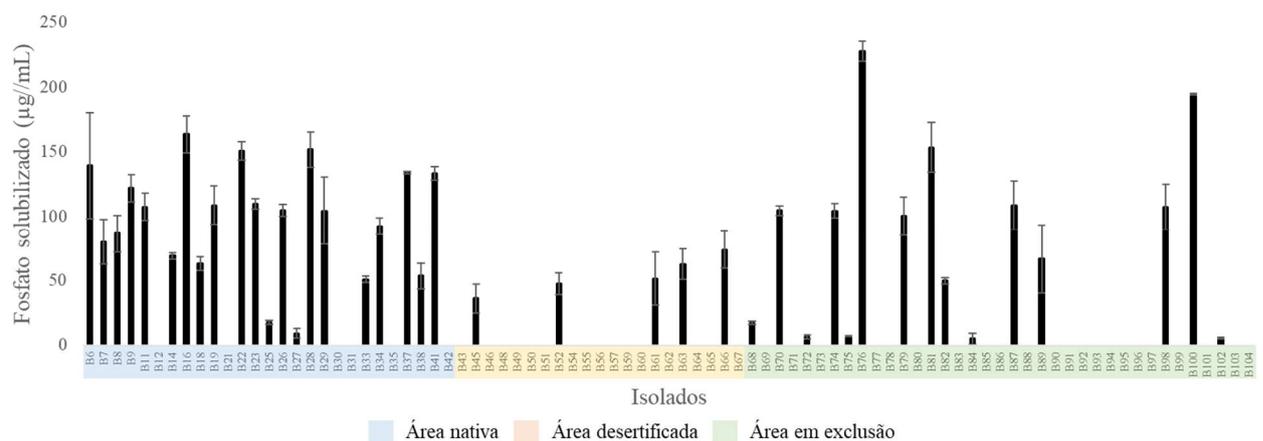
Figura 9. Produção de ácido indol-acético (AIA) por bactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* isoladas de plantas de áreas nativa, desertificada e de exclusão de pastoreio do ND de Irauçuba-CE.



Fonte: elaborada pelo autor.

Um total de 41 isolados apresentaram resultado positivo para solubilização de fosfato, sendo cinco provenientes da área desertificada, 14 da área em exclusão e 22 da área nativa (Figura 10). Os valores de fosfato solubilizado variaram entre $5,5 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$ e $227 \pm 7,8 \mu\text{g/mL}$, sendo esse último o único valor acima de $200 \mu\text{g/mL}$, produzido pelo isolado BE76.

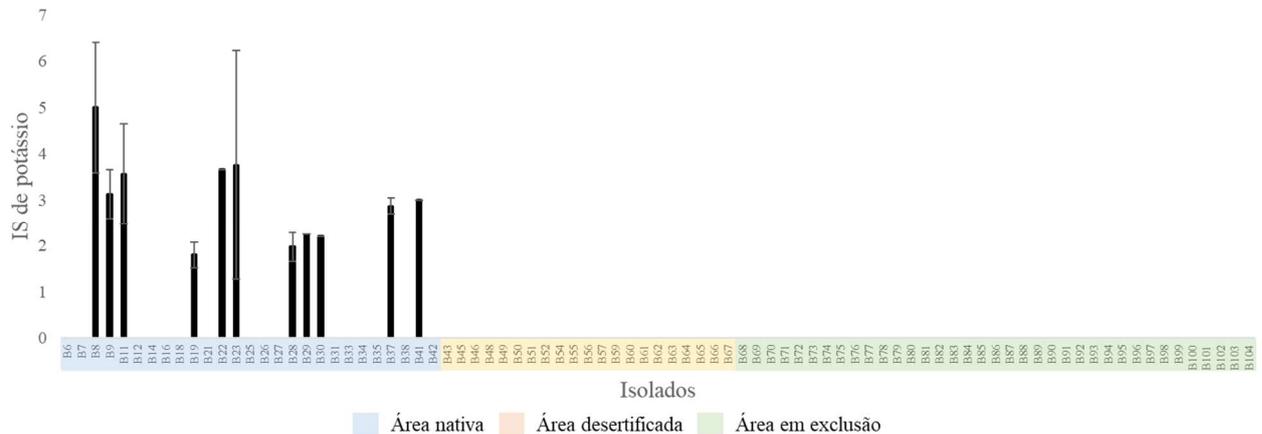
Figura 10. Propriedade de solubilização de fosfato de bactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* isoladas de plantas de áreas nativa, desertificada e de exclusão de pastoreio do ND de Irauçuba-CE.



Fonte: elaborada pelo autor.

Onze (11) isolados foram capazes de solubilizar potássio, sendo todos eles provenientes de plantas da área nativa (Figura 11). Os índices de solubilização (mm/mm) variaram entre $1,8 \pm 0,2 \text{ mm}$ (BN19) e $5,0 \pm 1,4 \text{ mm}$ (BN08).

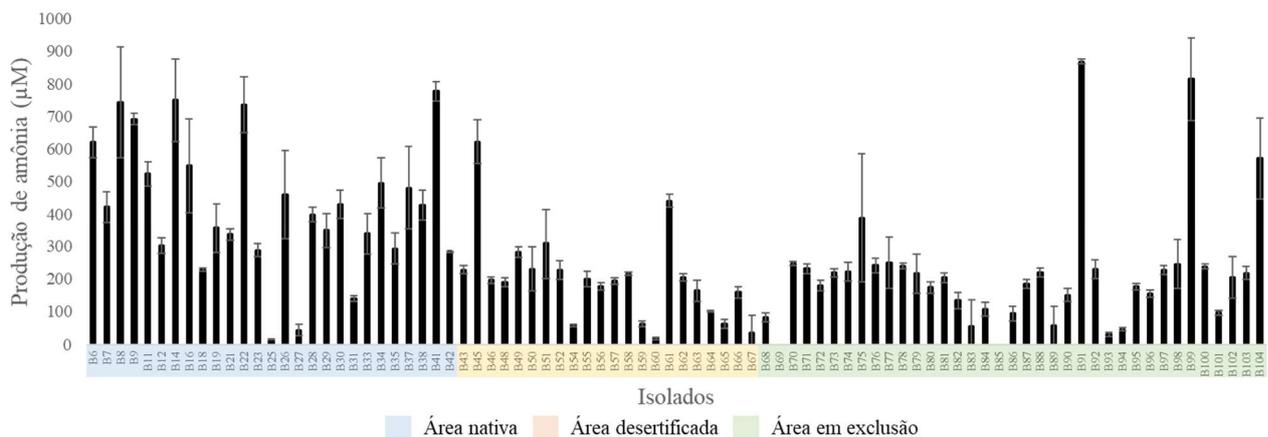
Figura 11. Propriedade de solubilização de potássio de bactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* isoladas de plantas de áreas nativa, desertificada e de exclusão de pastoreio do ND de Irauçuba-CE.



Fonte: elaborada pelo autor. IS: Índice de solubilização (tamanho do halo/tamanho da colônia)

A produção de amônia foi detectada em 84 dos isolados, com valores entre $14,81 \pm 1,6 \mu\text{M}$ e $868,26 \pm 8,2 \mu\text{M}$, sendo a atividade mais expressiva dentre as analisadas (Figura 12). Apenas dois isolados da área em exclusão não apresentaram produção (BE69 e BE85) e os menores valores foram verificados para isolados da área desertificada.

Figura 12. Produção de amônia por bactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* isoladas de plantas de áreas nativa, desertificada e de exclusão de pastoreio do ND de Irauçuba-CE.

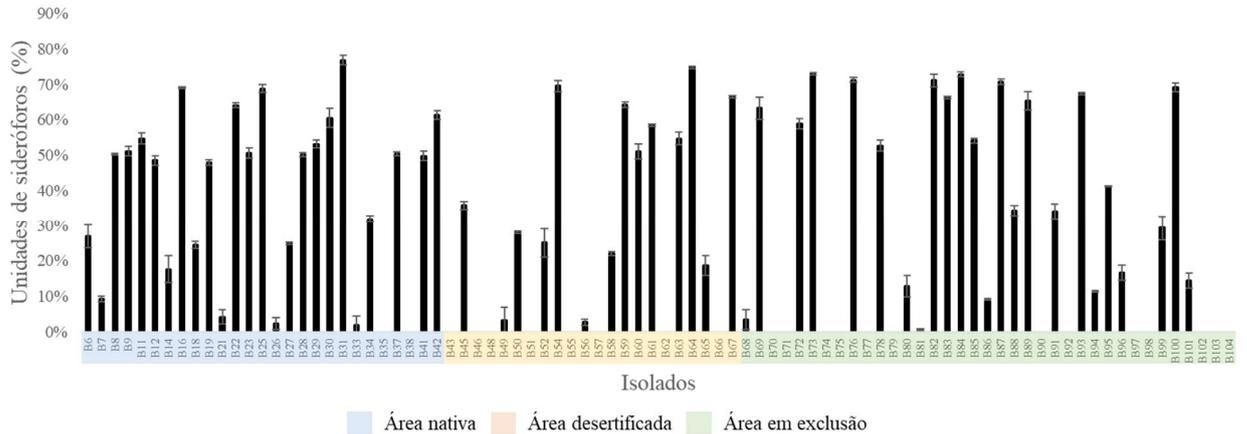


Fonte: elaborada pelo autor.

Um total de 63 isolados foram identificados como produtores de sideróforos (Figura 13), das quais 26, 14 e 23 foram respectivamente provenientes de plantas das áreas nativa,

desertificada e de exclusão. As porcentagens de unidades de sideróforos variaram entre $1,0 \pm 0,0$ e $77,0 \pm 1,0$.

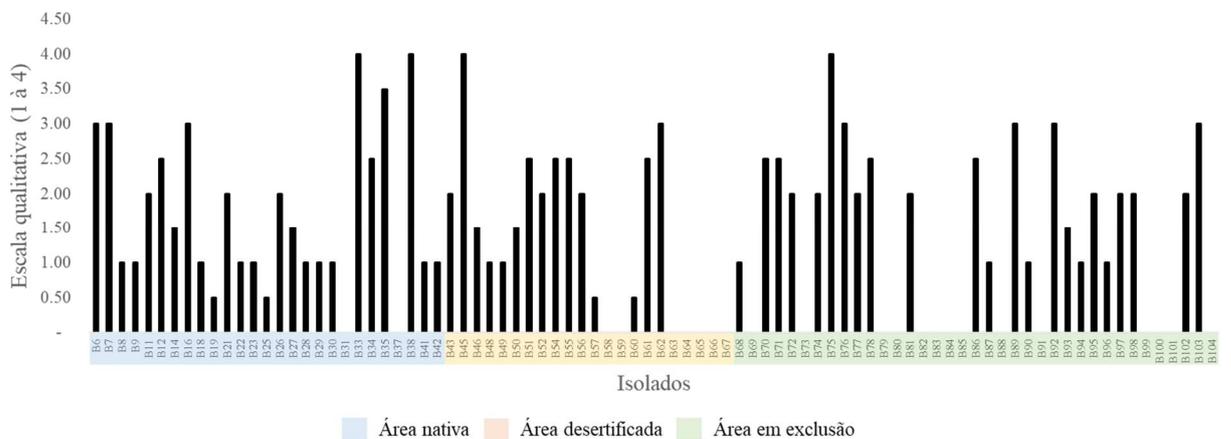
Figura 13. Produção de sideróforos por bactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* isoladas de plantas de áreas nativa, desertificada e de exclusão de pastoreio do ND de Irauçuba-CE.



Fonte: elaborada pelo autor.

A produção de exopolissacarídeos foi verificada em 63 dos isolados (Figura 14), sendo 26, 15 e 22 provenientes respectivamente das áreas nativa, desertificada e em exclusão. Desse total, cinco isolados (BN33, BN35, BN38, BD45, BD75) apresentaram uma excelente produção de acordo com a escala adotada (1 a 4).

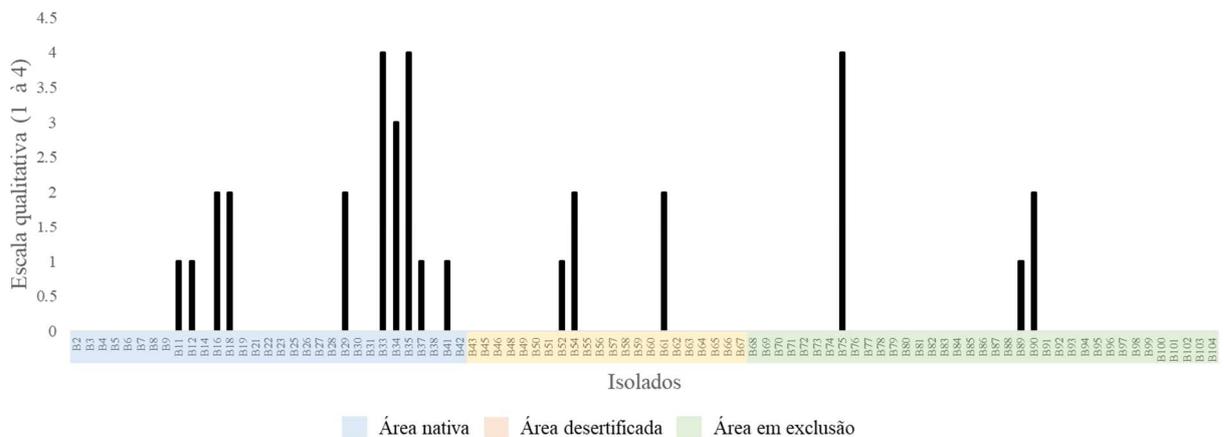
Figura 14. Produção de exopolissacarídeos por bactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* isoladas de plantas de áreas nativa, desertificada e de exclusão de pastoreio do ND de Irauçuba-CE.



Fonte: elaborada pelo autor. Valores: 0 – Sem produção; 1 – Baixa produção; 2 – Média produção; 3 – Boa produção; 4 – Excelente produção

Dezesseis (16) isolados apresentaram capacidade de inibir o crescimento de *Fusarium oxysporum*, dos quais 10 foram provenientes de plantas da área nativa, e três foram oriundos respectivamente das áreas desertificada e de exclusão (Figura 15). Três isolados (BN33, BN37 e BE 75) se destacaram pela alta capacidade de inibição do fungo, de acordo com a escala adotada.

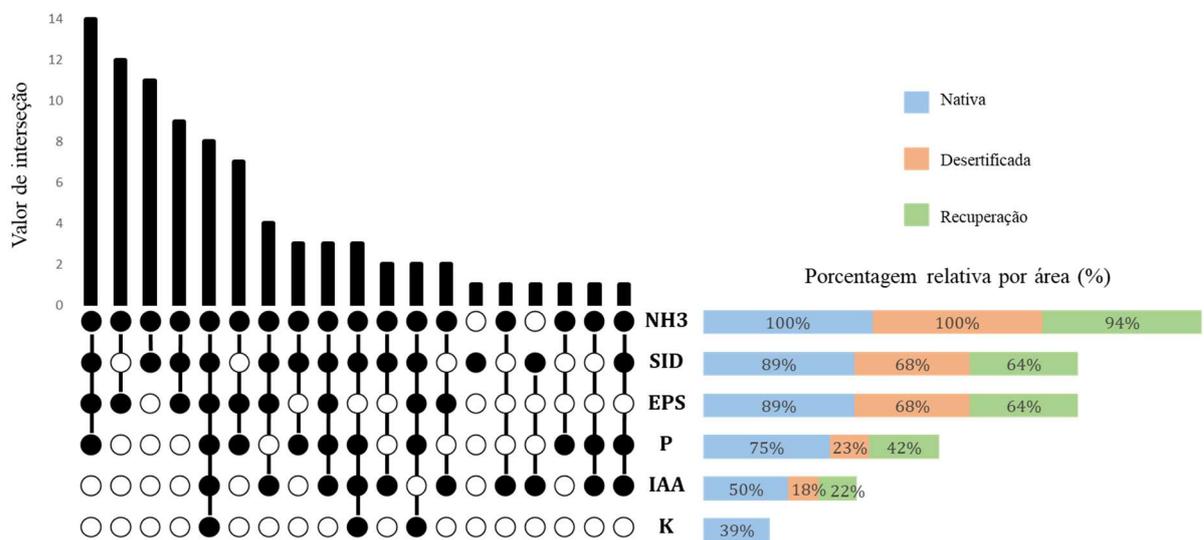
Figura 15. Inibição do crescimento do fungo *Fusarium oxysporum* por bactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* isoladas de plantas de áreas nativa, desertificada e de exclusão do ND de Irauçuba-CE.



Fonte: elaborada pelo autor. Valores: 0 – Sem inibição; 1 – Baixa inibição; 2 – Média inibição; 3 – Boa inibição; 4 – Excelente inibição

Todos os 86 isolados apresentaram pelo menos uma atividade relacionada a promoção do crescimento de plantas (Figura 16). A produção de amônia foi a mais conspícua entre os isolados (97,6%), seguida da produção de sideróforos e de exopolissacarídeos (ambos com 73,2%), solubilização de fosfato (47,6%), produção de AIA (30,23%) e solubilização de potássio (12,7%). Alguns isolados compartilharam mais de uma atividade, destacando-se a concomitância entre, amônia (NH₃), sideróforos (SID), exopolissacarídeos (EPS) e solubilização de fosfato (P). Com exceção da produção de amônia, atividade disseminada entre os isolados das três áreas, a maior positividade das atividades testadas foi encontrada na área nativa. Dentre elas, merecem destaque a produção de AIA e, principalmente, a solubilização de potássio – atividade detectada exclusivamente em isolados da área nativa. Apenas oito isolados foram positivos para todos os testes.

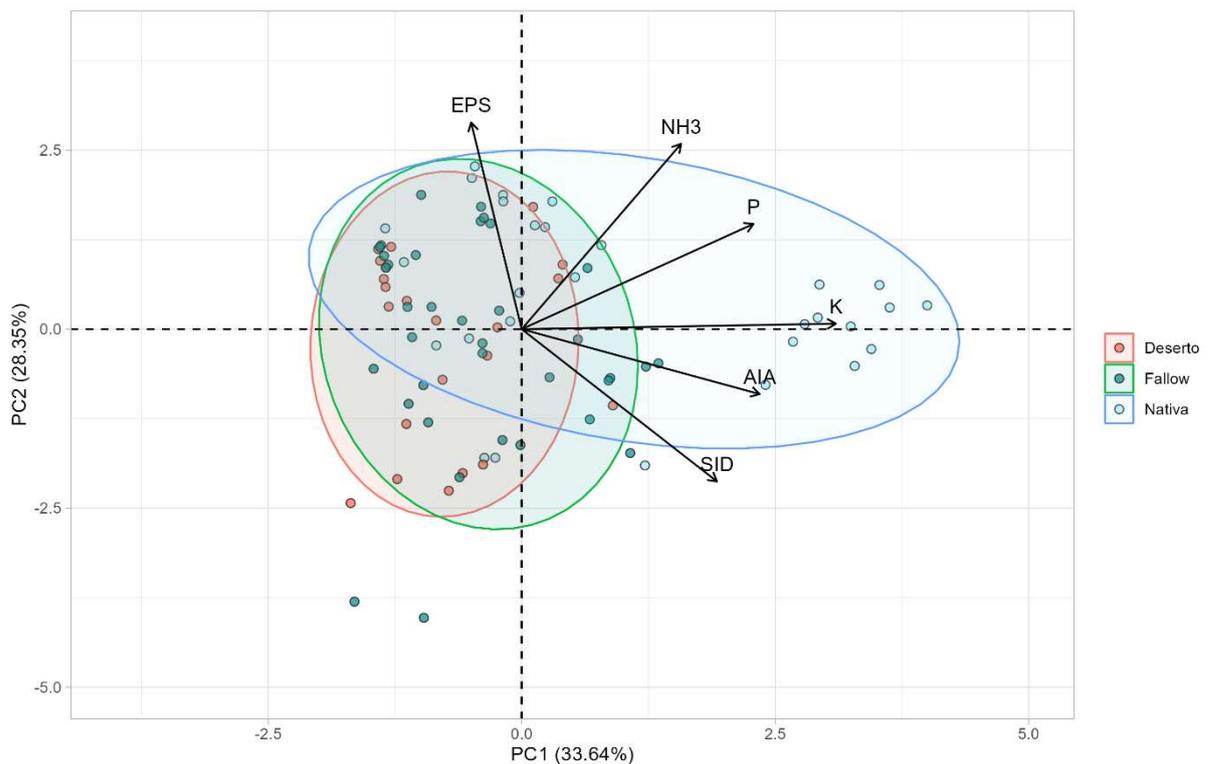
Figura 16. Sumário das propriedades de promoção do crescimento de plantas de rizobactérias endofíticas de *Mimosa tenuiflora* isoladas de plantas de áreas nativa, desertificada e de exclusão na ASD de Irauçuba, Ceará. O gráfico de barras à direita relaciona a porcentagem de isolados positivos de cada área com a propriedade de promoção do crescimento de plantas. O gráfico de barras superior relaciona o tamanho da interseção entre o número de isolados e as propriedades de promoção do crescimento das plantas e os pontos inferiores destacam essas propriedades.



Fonte: elaborada pelo autor. AIA: Produção de ácido indol-acético; NH₃: Produção de amônia; P: Solubilização de fosfato; K: Solubilização de potássio; SID: Produção de sideróforos; EPS: Produção de exopolissacarídeos; RN: Raízes de área nativa; RD: Raízes de área desertificada; RE: Raízes de área em recuperação.

Com relação à quantificação ou índice obtidos em cada teste, os isolados das áreas de exclusão e desertificadas apresentaram desempenho semelhante; bactérias da área nativa apresentaram resultados comparativamente mais significativos (Figura 17). A Análise de Componentes Principais (PCA) mostra que os isolados da área nativa são funcionalmente distintas das outras duas. A análise de permutação também evidencia que seus isolados apresentam os melhores desempenhos, principalmente a solubilização de potássio.

Figura 17. Análise de componentes principais (PCA) e análise multivariada por permutação (PERMANOVA) para a origem dos isolados de *Mimosa tenuiflora* (círculos) e para os testes de BPCP (setas). Para a análise, os valores de cada atividade foram somados a um (1) e normalizados usando função logarítmica na base 10.

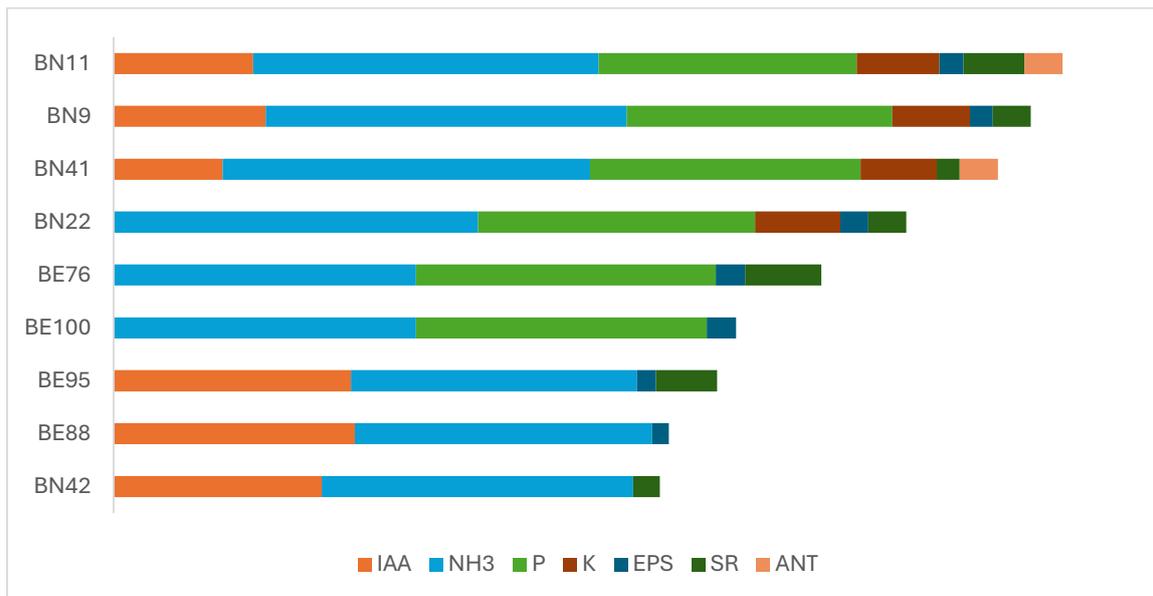


Fonte: elaborada pelo autor. AIA: Produção de ácido indol-acético; NH3: Produção de amônia; P: Solubilização de fosfato; K: Solubilização de potássio; SID: Produção de sideróforos; EPS: Produção de exopolissacarídeos;

Com base nas análises dos dados, foram selecionados nove isolados promissores, sendo cinco oriundos de indivíduos da área nativa e quatro de área de exclusão (Figura 18). Alguns destaques importantes sobre as estirpes selecionadas: todas são produtoras de amônia, enquanto BN42 é o único que não produz exopolissacarídeos. O isolado BN11 foi o único positivo para as sete atividades avaliadas. BN9, BN11, BN22 e BN41 apresentaram atividades para o fornecimento dos principais nutrientes para plantas – nitrogênio, fósforo e potássio. Os grupos formados por BE76 e BE100 e por BE42, BE88 e BE95 apresentaram atividades

comparativamente relevantes para a solubilização de fosfato e produção de AIA, respectivamente.

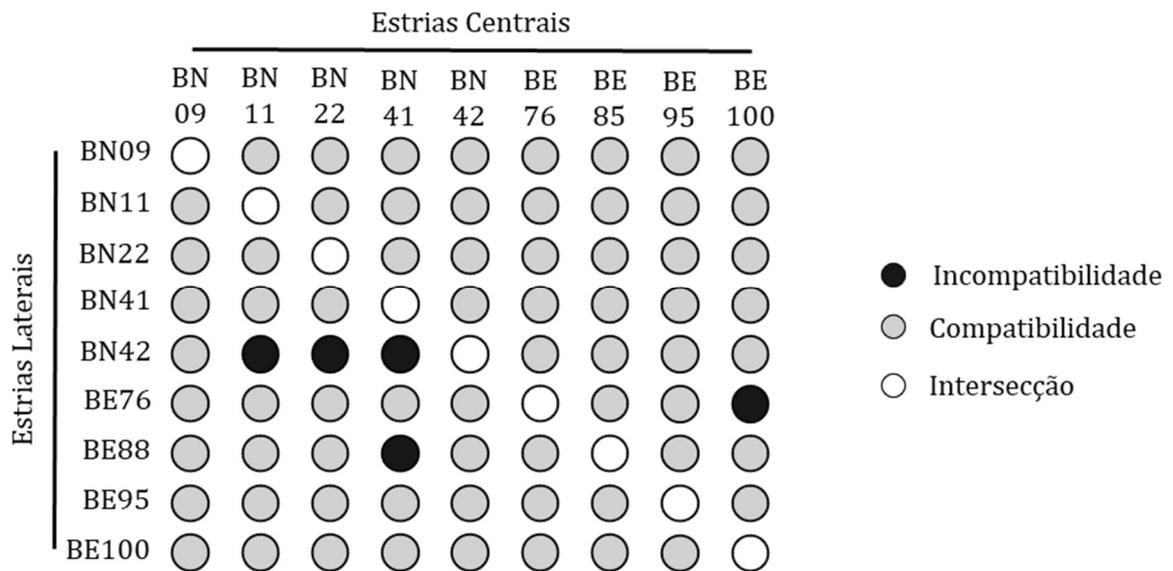
Figura 18. Atividades de promoção do crescimento de plantas apresentadas por bactérias endofíticas isoladas de jurema preta do ND de Irauçuba-CE. Os valores de cada atividade foram somados a um (1) e normalizados usando função logarítmica na base 10.



Fonte: elaborada pelo autor. AIA: Produção de ácido indol-acético; NH3: Produção de amônia; P: Solubilização de fosfato; K: Solubilização de potássio; SID: Produção de sideróforos; EPS: Produção de exopolissacarídeos; ANT: Atividade antagônica contra *Fusarium oxysporum*

No ensaio de compatibilidade, poucos isolados apresentaram inibição entre si: o isolado BN42 foi inibido por BN11, BN22 e BN41; o isolado BE88 foi inibido por BE41; e o isolado BE76 foi inibido por BE100 (Figura 19).

Figura 19. Avaliação de compatibilidade entre os isolados promissores selecionados. Os isolados indicados na coluna (estrias laterais) são aqueles que foram submetidos à atividade de inibição dos isolados indicados na linha superior (estrias centrais).



Fonte: elaborada pelo autor.

A identificação dos isolados promissores está disposta no Quadro 1. Quatro das bactérias provenientes da área nativa são pertencentes ao filo Proteobacteria, de modo que a bactéria BN42 e todas da área em exclusão pertencem ao filo Actinobacteria. Apenas a sequência obtida da bactéria BN09, pertencente ao gênero *Serratia*, não apresentou qualidade suficiente para permitir a identificação ao nível de espécie.

Quadro 2. Identificação molecular dos isolados promissores baseada na sequência de gene codificador para o RNA ribossomal 16S.

Isolado	Filo	Gênero	Identificação	Tamanho (pb)	Porcentagem de semelhança
BN09	Proteobacteria	<i>Serratia</i>	<i>Serratia</i> sp.	1235	99,84%
BN11	Proteobacteria	<i>Serratia</i>	<i>Serratia rubidaea</i>	1238	99,76%
BN22	Proteobacteria	<i>Serratia</i>	<i>Serratia rubidaea</i>	1210	99,75%
BN41	Proteobacteria	<i>Serratia</i>	<i>Serratia rubidaea</i>	1149	99,74%
BN42	Actinobacteria	<i>Micrococcus</i>	<i>M. yunnanensis</i> / <i>M. aloeverae</i> / <i>M. luteus</i>	1340	100%
BN76	Actinobacteria	<i>Cellulosimicrobium</i>	<i>C. funkei</i> / <i>C. cellulans</i>	1322	99,92%
BE88	Actinobacteria	<i>Citricoccus</i> / <i>Micrococcus</i>	<i>C. zhacaiensis</i> / <i>M. xinjiangensis</i>	1349	100%
BE95	Actinobacteria	<i>Arhtrobacter</i>	<i>A. saudimassiliensis</i>	1337	100%
BE100	Actinobacteria	<i>Cellulosimicrobium</i>	<i>C. funkei</i> / <i>C. cellulans</i>	1308	100%

8. DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo de ampla caracterização de isolados endofíticos de *Mimosa tenuiflora* e dos efeitos ecológicos entre essa planta e seus microrganismos diante de uma degradação ambiental. Além de sugerir diferentes respostas da jurema preta aos efeitos gerados pela desertificação, evidencia-se que seus microrganismos endofíticos possuem um papel de grande relevância no seu sucesso em colonizar áreas degradadas. A relação entre quantidade de endofíticos de cada área estudada (nativa, exclusão e desertificado) e qualidade das atividades de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) foram adotados como principal ponto de discussão.

Um menor número de isolados endofíticos recuperados das áreas desertificadas, associada à baixa capacidade de promoção do crescimento de plantas, sugere perda de diversidade causada pelo processo de degradação da terra. No caso de áreas em recuperação observou-se um número reduzido de BPCP comparado às áreas nativas; entretanto, também foi possível observar que determinadas bactérias da área de exclusão obtiveram resultados tão relevante quanto, ou mais, que as da área nativa. Esse fenômeno sugere que indivíduos de jurema preta de área nativa selecionam suas bactérias com base na qualidade da promoção do crescimento vegetal, não na quantidade de promotores. Fator que corrobora com isso é o possível clímax comunitário na endosfera de raízes nativas, de onde os valores obtidos foram semelhantes entre si, sejam altos ou não, e a quantidade de promotores foi comparativamente alta.

O fato de haver 97,6% dos endofíticos radiculares de jurema preta produzindo amônia evidencia a reconhecida capacidade de fixar nitrogênio das bactérias associadas a leguminosas. A produção de amônia a partir da atmosfera não só disponibiliza nitrogênio para as plantas, mas também funciona como gatilho para a produção de supressores de doenças (RANA *et al.*, 2020). Nesse sentido, a associação e compartimentalização de bactérias diazotróficas em nódulos é uma característica marcante dos indivíduos pertencentes à família Fabaceae, família à qual pertence a *Mimosa tenuiflora*. Considerando que a amostragem de isolados não preteriu os nódulos radiculares, sugere-se que parte da diversidade obtida é proveniente dos nódulos de jurema preta.

A homogeneidade da produção de amônia com relação às áreas estudadas sugere uma presença indiscriminada de fixadores de nitrogênio em todos os níveis de degradação. Esse fator pode estar associado ao fato de que os planossolos de Irauçuba apresentam grande

quantidade de Nitrogênio Orgânico Associado a Minerais – parte não lábil do nitrogênio orgânico, dificilmente assimilado por microrganismos – e pouca de Nitrogênio Orgânico Particulado – porção lábil do nitrogênio orgânico, facilmente assimilado por microrganismos (OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2019). Possivelmente, as bactérias possuidoras do complexo enzimático da nitrogenase foram selecionadas naturalmente para sobreviver nesse ambiente e, portanto, selecionados para se associarem com indivíduos de *Mimosa tenuiflora*.

Entretanto, os valores obtidos para a produção de amônia (máximo de $868,26 \pm 8,2$ μM) foram, comparativamente, baixos em relação aos observados na literatura – (PATEL *et al.*, 2021) – obtiveram um valor máximo de 1513 μM , o qual ilustra a média observada para trabalhos com bactérias endofíticas. Isso foi uma surpresa, uma vez que se esperam altos valores de fixação de nitrogênio em uma planta leguminosa. Uma hipótese para tanto é que, no caso da jurema preta, a fixação de nitrogênio pode ser um fenômeno comunitário e bem estabelecido de seus microrganismos, possivelmente funcionando como um *trade-off*. Isto é, a capacidade de assimilação do nitrogênio está no número de bactérias que o fazem, não na quantidade de amônia que eles produzem. Embora o número de produtores seja similar, os valores obtidos também sugerem uma perda funcional dessa capacidade nas áreas desertificadas, proveniente da degradação dos solos.

A solubilização de fosfato, por sua vez, foi positiva em pouco menos da metade dos isolados, sendo a maioria deles provenientes de áreas nativas. O fósforo atua como o segundo macronutriente inorgânico mais importante para os seres vivos no solo, participando de incontáveis processos metabólicos e compondo a estrutura dos ácidos nucleicos e fosfolípídeos celulares. Entretanto, grande parte do fósforo presente no solo não é lábil, sendo papel dos microrganismos disponibilizarem-no para as plantas (ZAIDI *et al.*, 2009). Em solos tropicais, esse macronutriente é especialmente escasso, principalmente no que se diz respeito aos solos de Irauçuba (OLIVEIRA E SALES, 2015). Novamente, nota-se uma prevalência da área conservada para a quantidade de isolados positivos e de alguns poucos, porém altos, valores para as áreas em recuperação, em que os isolados de área desertificada apresentaram pouca relevância para esse ensaio.

Entretanto, nenhum dos isolados obteve valores significativos, comparados à literatura, de fósforo solubilizado. Tatung e Deb (2023) obtiveram uma máxima de $272,89$ $\mu\text{g/mL}$ – valor representativo da média encontrada em testes com endofíticos. Em contraste, o isolado com maior capacidade observada, BE76, gerou $227 \pm 7,8$ $\mu\text{g/mL}$ de fosfato solubilizado. Essa característica pode se explicar diante dos baixos valores de pH dos solos de Irauçuba, que,

independentes de níveis de conservação, varia entre 4,3 e 4,8 (OLIVEIRA *et al.*, 2021). É fato que o mecanismo mais conhecido para solubilizar fosfato é a liberação de ácidos orgânicos por microrganismos, entretanto esse atributo pode ser enebriado diante dos solos ácidos em que são selecionados. Outra hipótese é de que a associação de *Mimosa tenuiflora* com fungos micorrízicos pode ter um papel protagonista nesse quesito (TEIXEIRA-RIOS; DE OLIVEIRA; YANO-MELO, 2016), onde as bactérias atuam como coadjuvantes.

Possivelmente, a solubilização de potássio siga as mesmas hipóteses, tendo em vista que a produção de ácidos orgânicos também é o principal mecanismo de disponibilização de potássio não-lábil e que micorrizas também transportam potássio solúvel para a endosfera de raízes. Apesar disso, o valor obtido pela cepa BN08 foi de $5 \pm 1,4$ mm/mm, enquanto (MURSYIDA; MUBARIK; TIAHJOLEKSONO, 2015) obtiveram um índice máximo de 3,73. Além disso, os resultados obtidos sugerem a ausência ou escassez de solubilizadores de potássio nos ambientes desertificados e em recuperação, uma vez que apenas os endofíticos de área nativa apresentaram esse atributo. Pode-se apontar esse fator como outra consequência do processo de desertificação no núcleo de Irauçuba, onde, dessa vez, as áreas em recuperação ainda podem possuir baixa diversidade funcional com relação ao metabolismo do potássio.

Comparado ao estudo de Ahmad; Ahmad; Khan, (2008) que avaliaram a produção de ácido indol-acético a partir de 300 µg/mL de L-triptofano, a produção de auxina pelas bactérias de jurema preta foi considerada elevada. Os autores obtiveram uma máxima de 13,37 µg/mL de AIA, enquanto a cepa BE88 produziu uma concentração de $79,2 \pm 0,4$ µg/mL. Esse panorama pode indicar um papel significativo desse atributo na promoção do crescimento de jurema preta. A presença desse hormônio estimula o desenvolvimento radicular e pode regular a ação de outros hormônios de crescimento. O crescimento radicular em áreas como Irauçuba são de grande valor, tendo em vista a baixa disponibilidade de nutrientes e água nos solos em questão. Desse modo, a presença de auxina auxilia na maior área de contato da planta com os recursos disponíveis (AHEMAD; KIBRET, 2014).

Esse fato sugere, inclusive, que os maiores valores apresentados em raízes de área em recuperação também se dão pela hipótese da sua funcionalidade intermediária. Desse modo, indivíduos de jurema preta presentes em áreas de exclusão selecionaram bactérias específicas que iriam auxiliá-las qualitativamente no crescimento radicular, enquanto as de área nativa não necessitam de valores sobressaltados, mas de um equilíbrio quanto à quantidade de isolados que apresentam tal atributo.

A produção de exopolissacarídeos foi um atributo de grande representatividade nos isolados estudados, sendo notada em 73,2% deles. Os EPS podem atuar como agentes protetores contra estresses abióticos e bióticos, principalmente com relação à retenção de água e na diminuição de estresses salinos e de componentes tóxicos do solo (BHAGAT *et al.*, 2021). Tendo isso em vista, esse valor pode refletir uma adaptação – das bactérias e da *Mimosa tenuiflora* – diretamente relacionada às condições adversas dos solos de Irauçuba.

Em específico, eles não podem ser classificados como solos salinos, uma vez que não possuem condutividade elétrica para tanto (FERREIRA *et al.*, 2018), mas esses ambientes possuem alta concentração de alumínio (Al^{3+}), principalmente nas áreas desertificadas (OLIVEIRA *et al.*, 2021). A toxicidade do alumínio (Al) é um dos principais problemas de estresse abiótico sofridos por ambientes naturais e de agricultura, principalmente em solos que de pH entre 4,5 e 5,5. A inibição do crescimento radicular é o sintoma mais prodigioso da toxicidade do Al nas plantas, também podendo se estender à diminuição da sua imunidade contra patógenos (RAHMAN; UPADHYAYA, 2021). Em resposta a isso, é possível que os indivíduos de *Mimosa tenuiflora* tenham selecionado bactérias que apaziguem os estresses causados pelo alumínio por meio da produção dessas biomoléculas.

A produção de sideróforos também se destacou nos isolados de jurema preta. O maior valor observado pelas cepas de jurema preta foi de $77 \pm 1\%$ - pela cepa BN31 –, que, comparado aos 36% obtidos por Rehan *et al.* (2023), se destaca como um dos principais atributos observados no contexto de *M. tenuiflora*. Esses agentes quelantes são uma estratégia direta de obtenção de ferro onde ele é escasso, tendo influências diretas desse elemento na nutrição das plantas. À primeira vista, sugere-se uma baixa disponibilidade de ferro nos solos de Irauçuba, entretanto não há como confirmar tal fator pois não foram encontrados, até o momento, estudos que corroborem com essa hipótese.

Em contrapartida, Hu e Boyer (1996) evidenciaram sideróforos com capacidade de quelar também outros metais, como o alumínio. Nesse estudo, uma cepa de *Bacillus megatherium* (ATCC 19213) produziu sideróforos em alta quantidade em ambientes com pouco ferro e muito alumínio. Os autores apontam que a produção de sideróforos retardou o transporte de alumínio para dentro das células microbianas, sugerindo que isso também se aplica ao ambiente endossférico. Tendo isso em vista, é possível que parte do sucesso de *Mimosa tenuiflora* em solos degradados de Irauçuba esteja relacionado à seleção de uma comunidade microbiana que diminua a atividade de Al^{3+} em suas raízes, pelos mesmos motivos citados anteriormente (RAHMAN; UPADHYAYA, 2021). Vale ressaltar que a produção de sideróforos

também está relacionada à redução da competição por nutrientes entre plantas e outros organismos edáficos, o que pode ser um dos fatores da predominância da jurema preta nesses ambientes (BENEDUZI; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2012).

A capacidade de algumas bactérias isoladas apresentarem antagonismo contra *Fusarium oxysporum* é promissora, indicando potencial para controle biológico de patógenos. Essa espécie de fungo encontrada em diversos solos é amplamente conhecida por causar distúrbios em plantas que eles infectam. Apesar de não haver estudo indicando a capacidade desse fungo de infectar *Mimosa tenuiflora*, esse antagonismo pode ser um forte indicativo da seleção de microrganismos que a auxiliem na proteção contra doenças (BENEDUZI; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2012). Nesse caso, os isolados das raízes de áreas nativas também foram mais expressivos, sugerindo a perda da capacidade de proteção da planta contra agentes fitopatogênicos.

Embora associados à mesma espécie de planta, nem todos os isolados promissores apresentaram compatibilidade entre si. Esse panorama é explicado pelo fato de que essas bactérias podem ser provenientes de raízes de diferentes indivíduos e, no caso de BN41 inibindo BE88, de áreas com diferentes níveis de conservação. Ainda assim, a incompatibilidade entre microrganismos já é observada dentro de um mesmo tecido vegetal; isso é facilmente estendido para as outras escalas citadas.

Quatro das cinco bactérias promissoras pertencentes à área nativa (BN09, BN11, BN22 e BN 41) foram classificadas no filo Proteobacteria, sendo todas pertencentes ao gênero *Serratia* e as três primeiras identificadas como *Serratia rubidaea*; enquanto isso, a bactéria BN42 e todas as pertencentes à área em exclusão (BE76, BE88, BE95 e BE100) foram classificadas no filo Actinobacteria.

As proteobactérias são microrganismos Gram-negativos conhecidos por colonizar os mais diversos ambientes terrestres; no solo, elas representam uma grande parcela da sua biodiversidade total (MADIGAN *et al.*, 2016). Segundo Trivedi *et al.* (2020), parece haver um enriquecimento desse grupo na microbiota relacionada a diversas plantas, sendo o principal filo presente em seus ambientes endosféricos. O gênero *Serratia* também é amplamente distribuído pela superfície terrestre, já sendo, inclusive, encontrado em nódulos de outras leguminosas, tais como a soja (LI *et al.*, 2008). De fato, Oliveira *et al.* (2021) destacaram o gênero como englobando parte das melhores BPCP isoladas dos solos de Irauçuba.

Além disso, o gênero *Serratia* também é retratado na produção de AIA, sideróforos e ACC-deaminase em solos contaminados com metais pesados (CARLOS *et al.*, 2016) e no

controle de agentes fitopatogênicos (SINGH *et al.*, 2019). Em concordância a isso, a espécie *Serratia rubideae* também já foi classificada como uma bactéria com atividade antifúngica em espécies de oleaginosas, e, especificamente, inibidora do fungo *Fusarium oxysporum* em plantações de tomate, corroborando, assim, com os resultados obtidos pelas cepas B11 e B41. Além disso, cepas endofíticas de *S. rubideae* pertencentes a plantas de quinoa foram capazes de solubilizar fosfato e promover a germinação de sementes sob estresse salino e de solos contaminados por metais (MAHDI *et al.*, 2021).

As actinobactérias, que ilustraram todas as bactérias promissoras da exclusão e uma da área nativa, são um filo de bactérias Gram-positivas também amplamente distribuídos pela superfície do planeta. Elas são conhecidas, principalmente, por produzir grande parte dos antibióticos conhecidos e por apresentar diversas características morfológicas associadas a ambientes oligotróficos, tais como a produção de esporos e de estruturas semelhantes a micélios (MADIGAN *et al.*, 2016). Esse grupo também possui grande representatividade dos solos em geral, entretanto parece não ser beneficiado na seleção para tornarem-se endofíticas de plantas (TRIVEDI *et al.*, 2020).

O gênero *Micrococcus*, ao qual pertencem as cepas BN42 e BE88, é um grupo que contém tanto bactérias não patogênicas quanto patogênicas ao homem – destaque para a espécie *Micrococcus luteus*. Sua presença como promotor de crescimento também já foi observada, principalmente relacionada a ambientes oligotróficos, contaminados com metais pesados, com alta salinidade e pouca disponibilidade de água – o grande destaque vai para a espécie *Micrococcus yunnanensis*, representando, em 100% de compatibilidade, o isolado BN42 (BORZOO *et al.*, 2021; GHANBARZADEH *et al.*, 2019; MAJHI; LET; BANDOPADHYAY, 2024; MESA *et al.*, 2015; PRUDÊNCIO DE ARAÚJO *et al.*, 2020; SUKWEENADHI *et al.*, 2015). *Micrococcus aloeverae*, primeiramente isolada da planta *Aloe vera*, também é uma espécie associada à facilitação do crescimento de plantas, por meio da produção de AIA e sideróforos, e à biorremediação de solos e esgotos (AHMAD; SHARMA; SHARMA, 2020; FULEKAR *et al.*, 2018; PRAKASH *et al.*, 2014; SINHA *et al.*, 2019). Vale ressaltar que a cepa BE88 também está relacionada à espécie *Citricoccus zhacaiensis*, que, por sua vez, é caracterizada como uma BPCP osmotolerante (SELVAKUMAR *et al.*, 2015).

Apesar da espécie *Arthrobacter saudimassiliensis* (BE95) não possuir ampla descrição para além do estudo que explorou seu isolamento em amostras de ar (PAPADIOTI *et al.*, 2017), o gênero *Arthrobacter* é amplamente tratado como potenciais BPCP. Em especial, destacam-se seus estudos associados a solubilização de fosfato e promoção do crescimento de

plantas em ambientes com alta salinidade (CHEN *et al.*, 2006; KESHAVARZ ZARJANI *et al.*, 2013; MUKHOPADHYAY *et al.*, 2021; ULLAH; BANO, 2015; ZHAO *et al.*, 2016).

O gênero *Cellulosimicrobium* (BE76 e BE100) está, geralmente, associado a biorremediação e ambientes com estresses hídricos e salinos (MARASCO *et al.*, 2012; TIRRY *et al.*, 2018) Tanto *C. cellulans* quanto *C. funkei* são espécies principalmente relacionadas ao crescimento de plantas por meio da diminuição de estresses salinos, atividade antifúngica e, em especial, na redução da atividade de Cromo no solo (BAI *et al.*, 2021; CHATTERJEE; SAU; MUKHERJEE, 2009; KARTHIK *et al.*, 2016, 2017, 2021; KARTHIK; ARULSELVI, 2017; NABTI *et al.*, 2014).

A possível diferença entre os filos das bactérias promissoras presentes nas áreas nativas e em exclusão corrobora com a hipótese de que o solo disponível para *Mimosa tenuiflora* possui diferentes diversidades de acordo com seus níveis de degradação. Especificamente nos solos de Irauçuba-CE, o filo Actinobacteria representou a maior parte das Unidades Taxonômicas Operacionais (OTU) obtidas por Pereira *et al.* (2021), sendo, portanto, o mais representativo. Notou-se, ainda, que Proteobacteria é um filo, comparativamente, mais presente em áreas nativas, sugerindo que o ambiente mais conservado possibilita sua maior colonização (PEREIRA *et al.*, 2021). Sendo assim, os resultados observados geram a hipótese de que os indivíduos de *Mimosa tenuiflora* de áreas em exclusão selecionaram mais endofíticos do filo Actinobacteria, não só por estarem mais disponíveis, mas também por suas características de resistência terem sido um importante fator para a colonização e sucesso dessa planta em ambientes anteriormente degradados.

Aliado a isso, nota-se que todas as bactérias endofíticas promissoras estão estritamente relacionadas à diminuição de estresses ambientais, geralmente pela redução da atividade de metais e de sódio no solo. Essa ideia corrobora com os resultados obtidos, principalmente, no que se diz respeito à produção de sideróforos e de exopolissacarídeos. Ou seja: *Mimosa tenuiflora* pode estar selecionando seus microrganismos endofíticos com base, principalmente, nas proteções abióticas que eles têm a oferecer, onde a obtenção de nutrientes torna-se um atributo subestimado em ambientes edáficos de Irauçuba-CE – como também sugerem os resultados obtidos na produção de amônia e solubilizações de potássio e fosfato. Esse panorama parece, inclusive, ser mais destacado nos isolados de áreas de exclusão e desertas, onde tais estresses ambientais são mais evidentes.

Essas hipóteses poderão ser exploradas e confirmadas por meio de futuros estudos metagenômicos da comunidade endofítica de jurema preta das diferentes áreas de Irauçuba-CE.

De antemão, a variabilidade nos resultados entre as áreas estudadas destaca a importância da conservação da biodiversidade bacteriana nas áreas nativas e o impacto negativo da degradação do solo nas funções das bactérias endofíticas. A compreensão dessas interações pode contribuir para estratégias de recuperação de áreas degradadas e para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis na região.

De posse desse conhecimento, e dos obtidos na literatura, é possível afirmar que os isolados deste estudo despontam como potenciais candidatos para estudos diretos em plantas e para a produção de um inoculante nativo e voltado para a recuperação de áreas degradadas. Usufruído desse produto, indivíduos de jurema preta conseguiriam se estabelecer em solos salinos e com alumínio com maior facilidade, aumentar sua disponibilidade de nitrogênio, fósforo e potássio, reduzir a necessidade de produzir os próprios hormônios vegetais e obter maior defesa contra agentes fitopatogênicos.

Com o auxílio de técnicas adjacentes, tais com o revolvimento e a calagem do solo e a própria exclusão de pastagem, esse potencial inoculante pode acelerar a recuperação das áreas degradadas de Irauçuba e, futuramente, outras áreas do Semiárido Brasileiro. Essa necessidade urge, também, do fato de que os investimentos do Brasil no uso de inoculantes ainda são restritos a poucas culturas, como a soja e o milho.

9. CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou que o nível de degradação do solo influencia na seleção de microrganismos endofíticos das raízes da planta *Mimosa tenuiflora*. Quanto maior o nível de degradação no solo, menor a diversidade funcional dos microrganismos endofíticos. A produção de AIA e a solubilização de potássio foram considerados os atributos prioritários para produção de um consórcio que poderá ser utilizado em estudos de recuperação de áreas degradadas de Irauçuba-CE. Com relação aos isolados promissores avaliados neste estudo, a presença marcante do filo Actinobacteria e de espécies associadas a ambientes salinos, secos e contaminados por metais indicam que *Mimosa tenuiflora* utiliza a resistência a estresses abióticos como critério de seleção de seus microrganismos. Por fim, este estudo indica que endofíticos promotores do crescimento vegetal de plantas pioneiras são fortes candidatos para a formulação de bioinoculantes que visam acelerar o processo de sucessão ecológica e, no contexto abordado, a recuperação de áreas suscetíveis à desertificação.

REFERÊNCIAS

- AB'SABER, A.N. Os domínios morfoclimáticos da América do Sul. **Geomorfologia**, n. 52, p. 1-21. 1977.
- 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, jan. 2014.
- AHMAD, E.; SHARMA, S. K.; SHARMA, P. K. Deciphering operation of tryptophan-independent pathway in high indole-3-Acetic acid (IAA) producing *Micrococcus aloeverae* DCB-20. **FEMS Microbiology Letters**, v. 367, n. 24, p. 1-9, 2020.
- AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research**, v. 163, n. 2, p. 173–181, 2008.
- ALI, M. A. *et al.* The good, the bad, and the ugly of rhizosphere microbiome. Em: **Probiotics and Plant Health**. Springer Singapore, 2017. p. 253–290.
- AMARIZ, I. A. E. *et al.* Chemical study of *Mimosa tenuiflora* barks. **Natural Product Research**, v. 36, n. 7, p. 1893–1897, 2022.
- ARAÚJO, W. L., *et al.* Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, 47(3), 229–236, 2021.
- ARAUJO, H. F. P. *et al.* Human disturbance is the major driver of vegetation changes in the Caatinga dry forest region. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p 1-11, 2023.
- BAI, L. *et al.* Novel anti-fungal d-laminaripentaose-releasing endo- β -1,3-glucanase with a ricin-like domain from *Cellulosimicrobium funkei* hy-13. **Biomolecules**, v. 11, n. 8, 2021.
- BARI, R.; JONES, J. D. G. Role of plant hormones in plant defence responses. **Plant Molecular Biology**, v. 69, n. 4, p. 473–488, 2009.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecologia de indivíduos a ecossistemas**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4 SUPPL., p. 1044–1051, 2012.
- BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. J.; BAKKER, P. A. H. M. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 8, p. 478–486, 2012.
- BERG, G. *et al.* Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. **Microbiome**, v. 8, n. 1, p. 1-22 2020.
- BHAGAT, N. *et al.* Bacterial exopolysaccharides: Insight into their role in plant abiotic stress tolerance. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 8, p. 1045–1059, 2021.

- BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1327–1350, 2012.
- BORZOO, S. *et al.* Characterization of physiological responses and fatty acid compositions of *Camelina sativa* genotypes under water deficit stress and symbiosis with *Micrococcus yunnanensis*. **Symbiosis**, v. 83, n. 1, p. 79–90, 2021.
- BRIC, J. M.; BOSTOCK, R. M.; SILVERSTONE, S. E. Rapid *in situ* assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 2, p. 535–538, 1991.
- CAPPUCCINO, J.G. SHERMAN, N. Microbiology: A Laboratory Manual. **Benjamin-Cummings Publishing Company**, v. 5, 477 p, 1999.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **MICROBIOLOGIA DO SOLO**. Piracicaba-SP 2^a ed., 2016
- CARLOS, M. H. J. *et al.* Assessing the effects of heavy metals in ACC deaminase and IAA production on plant growth-promoting bacteria. **Microbiological Research**, v. 188–189, p. 53–61, 2016.
- CARPANEZZI, A. A. *et al.* **Espécies pioneiras para recuperação de áreas degradadas: a observação de laboratórios naturais**. Em: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 1990, São Paulo. p. 216-221, 1990.
- CARVALHO, P. E. R. Espécies Arbóreas Brasileiras. **Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas**, v. 4, 2014.
- CEARÁ. Secretária dos Recursos Hídricos. Programa de ação de combate à desertificação e mitigação dos efeitos da seca, PAE-CE. Fortaleza: **Ministério do Meio Ambiente/Secretaria dos Recursos Hídricos**, 2010. 372 p.
- CGEE. Desertificação, degradação da terra e secas no Brasil. **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos**. Brasília-DF, 252p, 2016.
- CHAGAS, K. P. T.; LUCAS, F. M. F.; DE ALMEIDA VIEIRA, F. Predictive modeling of *Mimosa tenuiflora* (willd) poiret: How can climate change affect its potential distribution range? **Floresta**, v. 50, n. 2, p. 1315–1324, 2020.
- CHATTERJEE, S.; SAU, G. B.; MUKHERJEE, S. K. Plant growth promotion by a hexavalent chromium reducing bacterial strain, *Cellulosimicrobium cellulans* KUCr3. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, n. 10, p. 1829–1836, 2009.
- CHEN, Y. P. *et al.* Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v. 34, n. 1, p. 33–41, 2006.
- DA SILVA SANTOS, M. *et al.* Rhizobacteria from Root Nodules of Brazilian Native Legumes Promote-Growth *Sorghum bicolor* L. Under Drought Conditions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 54, n. 5, p. 586–596, 2023.
- DIAS, A. F. *et al.* Pyrolysis and wood by-products of species from the Brazilian semi-arid region. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, v. 46, n. 117, 2018.

DIAS, M. A. M. *et al.* *Paraburkholderia* spp. are the main rhizobial microsymbionts of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. in soils of the Brazilian tropical dry forests (Caatinga biome). **Systematic and Applied Microbiology**, v. 44, n. 3, 2021.

DOLORES, A. *et al.* Characteristics of nodule bacteria from *Mimosa* spp grown in soils of the Brazilian semiarid region. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 8, p. 788–796, 2014.

DUARTE-FILHO, L. A. M. D. S. *et al.* β -carboline-independent antidepressant-like effect of the standardized extract of the barks of *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir. occurs via 5-HT_{2A/2C} receptors in mice. **Journal of Psychopharmacology**, v. 36, n. 7, p. 836–848, 2022.

DALLING, J. W., & BROWN, T. A. Long-Term Persistence of Pioneer Species in Tropical Rain Forest Soil Seed Banks. **The American Naturalist**, 173(4), 531–535, 2009.

EMBRAPA. Bioma Caatinga. **Embrapa**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/bioma-caatinga/introducao>. Acesso em: 17 de janeiro de 2024.

ELLIOTT, G. N. *et al.* *Burkholderia* spp. are the most competitive symbionts of *Mimosa*, particularly under N-limited conditions. **Environmental Microbiology**, v. 11, n. 4, p. 762–778, abr. 2009.

ETESAMI, H.; EMAMI, S.; ALIKHANI, H. A. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 17, n. 4, p. 897–911, 2017.

FERGUSON, B. *et al.* Legume nodulation: The host controls the party. **Plant Cell and Environment**, v. 42, n. 1, p. 41–51, 2019.

FERREIRA, M. P. S. *et al.* Changes in attributes of soils subjected to fallow in desertification hotspot. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 49, n. 1, p. 22–31, 2018.

FIERER, N. Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 10, p. 579–590, 2017.

FIGUEIREDO, J. M. *et al.* Revegetation of degraded caatinga sites. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 24, n. 3, p. 332–343, 2012.

FLORA DO BRASIL. *Mimosa* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB18874>>. Acesso em: 27 jan. 2024

FULEKAR, J. *et al.* Novel microbial and root mediated green synthesis of TiO₂ nanoparticles and its application in wastewater remediation. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 736–743, 2018.

FUNCEME - FUNDAÇÃO CEARENSE DE METEOROLOGIA E RECURSOS HÍDRICOS. **Zoneamento ecológico-econômico das áreas susceptíveis à desertificação: núcleo I – Irauçuba/Centro-Norte**. Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora, 2015. 304 p.

- GAURI, S. S.; MANDAL, S. M.; PATI, B. R. Impact of *Azotobacter* exopolysaccharides on sustainable agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 95, n. 2, p. 331–338, 2012.
- GHANBARZADEH, Z. *et al.* Evaluation of the growth, essential oil composition and antioxidant activity of *Dracocephalum moldavica* under water deficit stress and symbiosis with *Claroideoglomus etunicatum* and *Micrococcus yunnanensis*. **Scientia Horticulturae**, v. 256, 2019.
- GRETHER, R. Nota sobre la identidad del tepescohuite en México. **Botanical Sciences**, v. 48, p. 151–152, 1988.
- HANAN, N. P. *et al.* A Role for Drylands in a Carbon Neutral World? **Frontiers in Environmental Science**, v. 9, 2021.
- HAUFF, S. N. Sustentabilidade e Repartição dos Benefícios da Biodiversidade Representatividade do Sistema Nacional de Unidades de Conservação na Caatinga. **PNUD-PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO PROJETO BRA/00/021**. Brasília-DF, 2010.
- HIDER, R. C.; KONG, X. Chemistry and biology of siderophores. **Natural Product Reports**, v. 27, n. 5, p. 637–657, 2010.
- HOLUB, E. B. Natural variation in innate immunity of a pioneer species. **Current Opinion in Plant Biology**, 10(4), 415–424, 2007.
- HU, X.; BOYER, G. L. Siderophore-mediated aluminum uptake by *Bacillus megaterium* ATCC 19213. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 11, p. 4044–4048, 1996.
- HUANG, J. *et al.* Accelerated dryland expansion under climate change. **Nature Climate Change**, v. 6, n. 2, p. 166–171, 2016.
- KAASIK, H. *et al.* Chemical Composition of Traditional and Analog Ayahuasca. **Journal of Psychoactive Drugs**, v. 53, n. 1, p. 65–75, 2021.
- KARTHIK, C. *et al.* Cellulosimicrobium funkei-like enhances the growth of Phaseolus vulgaris by modulating oxidative damage under Chromium(VI) toxicity. **Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 6, p. 839–850, 2016.
- KARTHIK, C. *et al.* Characterization of multifarious plant growth promoting traits of rhizobacterial strain AR6 under Chromium (VI) stress. **Microbiological Research**, v. 204, p. 65–71, 2017.
- KARTHIK, C. *et al.* Cellulosimicrobium funkei strain AR6 alleviate Cr(VI) toxicity in Lycopersicon esculentum by regulating the expression of growth responsible, stress tolerant and metal transporter genes. **Rhizosphere**, v. 18, 2021.
- KARTHIK, C.; ARULSEVI, P. I. Biotoxic Effect of Chromium (VI) on Plant Growth-Promoting Traits of Novel Cellulosimicrobium funkei Strain AR8 Isolated from Phaseolus vulgaris Rhizosphere. **Geomicrobiology Journal**, v. 34, n. 5, p. 434–442, 2017.

- KESHAVARZ ZARJANI, J. *et al.* Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 59, n. 12, p. 1713–1723, 2013.
- KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture - A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 27, n. 1, p. 29–43, 2007.
- KUMAR, A. S.; MODY, K.; JHA, B. Bacterial exopolysaccharides - A perception. **Journal of Basic Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 103–117, 2007.
- KUYPERS, M. M. M.; MARCHANT, H. K.; KARTAL, B. The microbial nitrogen-cycling network. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 5, p. 263–276, 2018.
- LEAL, I. R. *et al.* Changing the Course of Biodiversity Conservation in the Caatinga of Northeastern Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 701–706, 7 jun. 2005.
- LI, J. H. *et al.* Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 238–246, 2008.
- LI, S.; LIBER, K. Influence of different revegetation choices on plant community and soil development nine years after initial planting on a reclaimed coal gob pile in the Shanxi mining area, China. **Science of the Total Environment**, v. 618, p. 1314–1323, 2018.
- LIMA, K. D. R. *et al.* Selection of tree species for revegetation of areas degraded by piçarra mining in the caatinga biome | Seleção de espécies arbóreas para revegetação de áreas degradadas por mineração de piçarra na caatinga. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 1, p. 203–213, 2015.
- LINDSTRÖM, K.; MOUSAVI, S. A. Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. **Microbial Biotechnology**, v. 13, n. 5, p. 1314–1335, 2020.
- LOPEZ, B. R. *et al.* Endophytic bacteria of the rock-dwelling cactus *Mammillaria fraileana* affect plant growth and mobilization of elements from rocks. **Environmental and Experimental Botany**, v. 81, p. 26–36, 2012.
- LUMACTUD, R. *et al.* Bacterial endophytes isolated from plants in natural oil seep soils with chronic hydrocarbon contamination. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016.
- MADIGAN, M. T., *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 987p
- MAHDI, I. *et al.* Halotolerant endophytic bacterium *Serratia rubidaea* ed1 enhances phosphate solubilization and promotes seed germination. **Agriculture (Switzerland)**, v. 11, n. 3, 2021.
- MAJHI, K.; LET, M.; BANDOPADHYAY, R. Efficacious use of *Micrococcus yunnanensis* GKSM13 for the growth of rice seedlings under copper stress with elucidation into genomic traits. **Current Plant Biology**, v. 37, 2024.
- MARASCO, R. *et al.* A Drought Resistance-Promoting Microbiome Is Selected by Root System under Desert Farming. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 2012.

MEENA, V. S.; MAURYA, B. R.; VERMA, J. P. Does a rhizospheric microorganism enhance K^+ availability in agricultural soils? **Microbiological Research**, v. 169, n. 5–6, p. 337–347, 2014.

MESA, J. *et al.* Endophytic cultivable bacteria of the metal bioaccumulator *Spartina maritima* improve plant growth but not metal uptake in polluted marshes soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2015.

MMA (Ministério do Meio Ambiente): Secretaria de Biodiversidade e Florestas. ANÁLISE DAS VARIAÇÕES DA BIODIVERSIDADE DO BIOMA CAATINGA: Suporte a estratégias regionais de conservação. Brasília-DF, 2005. 446 p.

MUKHOPADHYAY, R. *et al.* Soil salinity under climate change: Challenges for sustainable agriculture and food security. **Journal of Environmental Management**, v. 280, 2021.

MURSYIDA, E.; MUBARIK, N. R.; TIAHJOLEKSONO, A. Selection and identification of phosphate-potassium solubilizing bacteria from the area around the limestone mining in Cirebon quarry. **Research Journal of Microbiology**, v. 10, n. 6, p. 270–279, 2015.

NABTI, E. *et al.* Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plant pathogenic fungi by a *Cellulosimicrobium* sp. strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in northwestern Algeria. **European Journal of Soil Biology**, v. 61, p. 20–26, 2014.

NICOLESCU, A. C. *et al.* *Mimosa tenuiflora* for the treatment of damaged skin-study on its efficacy and tolerability in the treatment of irritative contact dermatitis. **Farmacia**, v. 69, n. 5, p. 907–913, 2021.

OLIVEIRA, A. *et al.* Long-term effects of grazing on the biological, chemical, and physical soil properties of the Caatinga biome. **Microbiological Research**, v. 253, 2021.

OLIVEIRA, J. G. B.; SALES, M. C. L. Monitoramento da Desertificação em Irauçuba. E-book. Fortaleza: **Imprensa Universitária**, 2015.

OLIVEIRA FILHO, J. DE S. *et al.* Assessing the effects of 17 years of grazing exclusion in degraded semi-arid soils: Evaluation of soil fertility, nutrients pools and stoichiometry. **Journal of Arid Environments**, v. 166, p. 1–10, jul. 2019.

PAPADIOTI, A. *et al.* '*Arthrobacter saudiensis*' sp. nov. a new bacterial species isolated from air samples in the urban environment of Makkah, Saudi Arabia. **New Microbes and New Infections**, v. 16, p. 41–42, 2017.

PATEL, P. *et al.* Plant growth promoting traits of marine *Micrococcus* sp. with bio-control ability against *Fusarium* in chickpea plant. **Vegetos**, v. 34, n. 1, p. 94–101, 2021.

PAULO, E. M. *et al.* Método alternativo de triagem de bactérias lácticas produtoras de exopolissacarídeos com confirmação rápida. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 4, p. 710–714, dez. 2012.

PAZYAR, N. *et al.* Skin wound healing and phytomedicine: A review. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 27, n. 6, p. 303–310, 2014.

- PENROSE, D. M.; GLICK, B. R. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. **Physiologia Plantarum**, v. 118, n. 1, p. 10–15, 2003.
- PEREIRA, A. P. *et al.* Grazing exclusion regulates bacterial community in highly degraded semiarid soils from the Brazilian Caatinga biome. **Land Degradation and Development**, v. 32, n. 6, p. 2210–2225, 2021.
- PEREZ-MARIN, A. M. *et al.* Núcleos de desertificação no semiárido brasileiro: ocorrência natural ou antrópica? **Parcerias Estratégicas**, v. 17, p. 87-106, 2012.
- PLIEGO, C. *et al.* Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens. **Plant and Soil**, v. 340, n. 1, p. 505–520, 2011.
- PRAKASH, O. *et al.* Description of *Micrococcus aloeverae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from Aloe vera. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 64, p. 3427–3433, 2014.
- PRUDÊNCIO DE ARAÚJO, V. L. V. *et al.* Bacteria from tropical semiarid temporary ponds promote maize growth under hydric stress. **Microbiological Research**, v. 240, 2020.
- RAHMAN, R.; UPADHYAYA, H. Aluminium Toxicity and Its Tolerance in Plant: A Review. **Journal of Plant Biology**, v. 64, n. 2, p. 101–121, 2021.
- RANA, K. L. *et al.* Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 113, n. 8, p. 1075–1107, 2 ago. 2020.
- REHAN, M. *et al.* Performance of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Isolated from Sandy Soil on Growth of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Plants**, v. 12, n. 8, 2023.
- RIJAVEC, T.; LAPANJE, A. Hydrogen cyanide in the rhizosphere: Not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. NOV, 2016.
- RINCÓN-MOLINA, C. I. *et al.* Plant growth-promoting potential of bacteria associated to pioneer plants from an active volcanic site of Chiapas (Mexico). **Applied Soil Ecology**, v. 146, 2020.
- ROY, S. *et al.* Celebrating 20 Years of Genetic Discoveries in Legume Nodulation and Symbiotic Nitrogen Fixation. **Plant Cell**, v. 32, n. 1, p. 15–41, 2020.
- SÁ, I. B. *et al.* Processos de desertificação no Semiárido brasileiro. **Embrapa Semiárido**. Capítulo em livro científico (ALICE), 2010.
- SAMPAIO, E. V. DE S. B. *et al.* Regeneração da vegetação de caatinga após corte e queima, em Serra Talhada, PE. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.33, 1998.
- SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, n. 1, 2019.

- SARTORI, A. A. *et al.* Effects of caatinga propolis from *Mimosa tenuiflora* and its constituents (santin, sakuranetin and kaempferide) on human immune cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 319, 2024.
- SCHWYN, B.; NEILANDS, J. B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, v. 160, n. 1, p. 47–56, . 1987.
- SELVAKUMAR, G. *et al.* *Citricoccus zhacaiensis* B-4 (MTCC 12119) a novel osmotolerant plant growth promoting actinobacterium enhances onion (*Allium cepa* L.) seed germination under osmotic stress conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 5, p. 833–839, 2015.
- SILVA, A. F. *et al.* Biological nitrogen fixation in tropical dry forests with different legume diversity and abundance. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 107, n. 3, p. 321–334, 2017.
- SILVA SÁ, F. V. *et al.* Initial growth of native trees on saline-sodic soil from northeastern brazil using amendments | Crescimento inicial de arbóreas nativas em solo salino-sódico do nordeste brasileiro tratado com corretivos. **Revista Ceres**, v. 60, n. 3, p. 388–396, 2013.
- SINGH, M. *et al.* Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Em: **PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture**. Elsevier, 2019. p. 41–66.
- SINHA, A. K. *et al.* Effects of growth conditions on siderophore producing bacteria and siderophore production from Indian Ocean sector of Southern Ocean. **Journal of Basic Microbiology**, v. 59, n. 4, p. 412–424, 2019.
- SOLTANPOUR, P. N.; WORKMAN, S. M.; SCNWAB, A. P. Use of Inductively-coupled Plasma Spectrometry for the Simultaneous Determination of Macro-and Micronutrients in NH₄ HCO₃-DTPA Extracts of Soils 1. **Soil Science Society of America Journal**. v. 43, p 75-78, 1979.
- SOUČEK, J. Potential Of Pioneer Tree Species Natural Regeneration – Review. **Zpravy Lesnickeho Vyzkumu**, 66 (3), pp. 188-196, 2021.
- SOUZA, B. I.; MENEZES, R.; CÁMARA ARTIGAS, R. Efeitos da desertificação na composição de espécies do bioma Caatinga, Paraíba/Brasil | Desertification effects on the species composition of the Caatinga biome, Paraíba/Brazil. **Investigaciones Geograficas**, v. 2015, n. 88, p. 45–59, 2015.
- SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 425–448, 2007.
- SUKWEENADHI, J. *et al.* *Paenibacillus yonginensis* DCY84^T induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression against aluminum, drought, and salt stress. **Microbiological Research**, v. 172, p. 7–15, 2015.
- TABARELLI, M., PERES, C. A., & MELO, F. P. L. The “few winners and many losers” paradigm revisited: Emerging prospects for tropical forest biodiversity. **Biological Conservation**, **155**, 136–140, 2012.

- TATUNG, M.; DEB, C. R. Isolation, Characterization, and Investigation on Potential Multi-trait Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Wild Banana (*Musa itinerans*) Rhizospheric Soil. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 17, n. 3, p. 1578–1590, 2023.
- TEIXEIRA-RIOS, T.; DE OLIVEIRA, J. R. G.; YANO-MELO, A. M. Arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus in the initial development of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 39, n. 4, p. 997–1004, 2016.
- TIRRY, N. *et al.* Screening of plant growth promoting traits in heavy metals resistant bacteria: Prospects in phytoremediation. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 613–619, 2018.
- TOMASELLA, J.; CUNHA, A. P. DE A.; MARENGO, J. A. Nota Técnica: Elaboração dos Mapas de índice de Aridez e Precipitação Total Acumulada para o Brasil. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação**, 2023.
- TRIVEDI, P. *et al.* Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 11, p. 607–621, 2020.
- ULLAH, A. *et al.* Drought tolerance improvement in plants: an endophytic bacterial approach. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 18, p. 7385–7397, 2019.
- ULLAH, S.; BANO, A. Isolation of plant-growth-promoting rhizobacteria from rhizospheric soil of halophytes and their impact on maize (*Zea mays* L.) under induced soil salinity. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 307–313, 2015.
- UNCCD. United Nations Convention to Combat Desertification. **The Global Land Outlook, second edition**. UNCCD, Bonn, 2022.
- WANG, Z.-Q.; WU, L.-H.; LIU, T.-T. Revegetation of steep rocky slopes: Planting climbing vegetation species in artificially drilled holes. **Ecological Engineering**, v. 35, n. 7, p. 1079–1084, 2009.
- WATANABE, F. S.; OLSEN, S. R. Test of an Ascorbic Acid Method for Determining Phosphorus in Water and NaHCO₃ Extracts from Soil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 29, n. 6, p. 677–678, nov. 1965.
- WHIPPS, J., LEWIS, K., COOKE, R. Mycoparasitism and plant disease control. **Fungi Biol Control Syst.**, pp. 161-187, 1988.
- ZAIDI, A. *et al.* Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, v. 56, n. 3, p. 263–284, 2009.
- ZHAO, S. *et al.* Isolation of Endophytic Plant Growth-Promoting Bacteria Associated with the Halophyte *Salicornia europaea* and Evaluation of their Promoting Activity Under Salt Stress. **Current Microbiology**, v. 73, n. 4, p. 574–581, 2016.