



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS PROFESSORA CINOBELINA ELVAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MARIA HELENA FERREIRA DUARTE

**DIVERSIDADE, POTENCIAL DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL E
TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS A PALMA
FORRAGEIRA NO SEMIÁRIDO PIAUIENSE**

Bom Jesus - PI

2024

MARIA HELENA FERREIRA DUARTE

**DIVERSIDADE, POTENCIAL DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL E
TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS A PALMA
FORRAGEIRA NO SEMIÁRIDO PIAUIENSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA, Campus Professora Cinobelina Elvas - CPCE, da Universidade Federal do Piauí - UFPI, na área de concentração Ciência do Solo como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientadora: Profa. Dra. Elaine Martins da Costa.

Bom Jesus - PI

2024

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Campus Professora Cinobelina Elvas
Serviço de Processamento Técnico

D812d Duarte, Maria Helena Ferreira.
Diversidade, potencial de promoção do crescimento vegetal e tolerância a estresses abióticos de bactérias associadas a palma forrageira no semiárido piauiense./ Maria Helena Ferreira Duarte. – 2024.
61 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas, Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Bom Jesus-PI, 2024.
Orientação: “Profa. Dra. Elaine Martins da Costa”.

1. Plantas-manejo. 2. Palma forrageira. 3. Bactérias diazotróficas. I. Duarte, Maria Helena Ferreira. II. Costa, Elaine Martins da. III. Título.

CDD 632.3

Elaborado por Sérvulo Fernandes da Silva Neto – CRB-15/603

MARIA HELENA FERREIRA DUARTE

**DIVERSIDADE, POTENCIAL DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL E
TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS A PALMA
FORRAGEIRA NO SEMIÁRIDO PIAUIENSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias, do Campus Professora Cinobelina Elvas, da Universidade Federal do Piauí, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias. Área de concentração: Ciência do Solo. Linha de pesquisa: Fertilidade, Biologia do solo e Nutrição de plantas.

Orientadora: Dra. Elaine Martins da Costa.

Aprovada em 25 de julho de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Elaine Martins da Costa (UFPI)
Orientadora

Profa. Dra. Rafaela Simão Abrahão Nobrega (UFRB)
Membro externo a instituição

Dra. Sandra Mara Barbosa Rocha (UFPI)
Membro interno a instituição

Dedico esta dissertação a Deus, por ter me acompanhado em todos os momentos. A meus pais, em especial minha mãe por todo incentivo e palavras sábias. Aos meus irmãos, por todo companheirismo e por último aos amigos que estiveram presentes ao longo desse percurso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por exatamente TUDO, a meus pais (Josiel e Valentina) e a meus irmãos (Filipe e Alice) que veem sendo uma base extremamente incrível, em especial minha mãe e irmã, por todo apoio e companheirismo.

A todos os queridos amigos que conquistei ao longo desses dois anos, que participaram de forma direta ou indireta da minha formação pessoal e acadêmica, com ênfase aos meus amigos do Laboratório de Análise de Solos (LAS). E em especial a Paula Alves uma amiga de longas datas.

Agradeço a minha orientadora Profa. Dra. Elaine Martins da Costa por toda atenção, dedicação, disponibilidade e ensinamentos ao longo de todo esse percurso.

A todos os membros do grupo de Microbiologia do solo. E para finalizar agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de mestrado, possibilitando a realização desta pesquisa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da UFPI/CPCE.

“Tudo passa; só Deus fica”
Padre Pil de Pietrelcina.

RESUMO

Bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs) podem contribuir com o manejo sustentável das culturas e quando isoladas em condições naturalmente estressantes podem conferir maior resistência a estresses abióticos. Essas bactérias podem associar-se a palma forrageira, um cacto amplamente utilizado para alimentação animal em regiões semiáridas. Assim, objetivou-se avaliar a diversidade, o potencial biotecnológico e a tolerância à estresses abióticos de bactérias associadas à dois genótipos de palma forrageira no semiárido piauiense. Amostras de cladódios, raízes e solo rizosférico dos genótipos doce e baiana foram obtidas para posterior inoculação em meios de cultura semissólidos isentos de nitrogênio (NFb e JNFb), seguindo-se de avaliação quanto a solubilização de fosfato, produção de ácido indolacético (AIA) e tolerância a estresses abióticos (altas temperaturas, salinidade e déficit hídrico). Observou-se diferentes densidades de bactérias rizosféricas, assim como diferentes distribuições de bactérias diazotróficas possuindo morfologia heterogênea, entre os diferentes compartimentos de palma forrageira para ambos os genótipos. Das 72 estirpes avaliadas (42 do genótipo doce e 30 do genótipo baiana), 33,33% foram capazes de solubilizar fosfato de cálcio e 16,66% toleraram a uma temperatura de 50 °C, sendo estas posteriormente avaliadas quanto a capacidade de produção de AIA e os demais estresses abióticos. Um total de 96,42% das estirpes possuiu a capacidade de produzir AIA e tolerar até o terceiro e segundo níveis de salinidade (NaCl 5%) e potencial hídrico (PEG 6000 -4 Mpa), respectivamente. As estirpes UFPI0109, UFPI0120, UFPI0133, UFPI0134, UFPI0137, UFPI0140, UFPI0146 e UFPI0150, associativas do genótipo doce e as estirpes UFPI0174 e UFPI01102, associativas do genótipo baiana, apresentam grande potencial de uso como inoculantes na palma forrageira em região semiárida, uma vez que são capazes de atuar em múltiplos processos de promoção do crescimento e suportar condições de estresse abiótico.

Palavras-chave: *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck. Bactérias diazotróficas. Potencial biotecnológico.

ABSTRACT

Plant growth-promoting bacteria (PGPBs) can contribute to sustainable crop management and, when isolated under naturally stressful conditions, can enhance resistance to abiotic stresses. These bacteria can associate with the cactus pear, widely used for animal feed in semi-arid regions. Therefore, the objective was to evaluate the diversity, biotechnological potential, and tolerance to abiotic stresses of bacteria associated with two genotypes of cactus pear in the semi-arid region of Piauí, Brazil. Samples from cladodes, roots, and rhizospheric soil of the doce and baiana genotypes were obtained for subsequent inoculation in nitrogen-free semi-solid culture media (NFb and JNFb). Evaluation included phosphate solubilization, indole acetic acid (IAA) production, and tolerance to abiotic stresses (high temperatures, salinity, and water deficit). Different densities of rhizospheric bacteria were observed, with diverse distributions of diazotrophic bacteria showing heterogeneous morphology among different compartments of the forage cactus for both genotypes. Out of 72 strains evaluated (42 from the doce genotype and 30 from the baiana genotype), 33.33% were capable of calcium phosphate solubilization, and 16.66% tolerated a temperature of 50 °C, which were subsequently evaluated for IAA production and other abiotic stresses. A total of 96.42% of the strains were able to produce IAA and tolerate up to the third and second levels of salinity (NaCl 5%) and water potential (PEG 6000 -4 MPa), respectively. Strains UFPI0109, UFPI0120, UFPI0133, UFPI0134, UFPI0137, UFPI0140, UFPI0146, and UFPI0150, associated with the doce genotype, and strains UFPI0174 and UFPI01102, associated with the baiana genotype, show great potential for use as inoculants in cactus pear in semi-arid regions, as they can act in multiple growth-promoting processes and withstand abiotic stress conditions.

Keywords: *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck, Diazotrophic bacteria, Biotechnological potential.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
2.1	Aspectos botânicos da palma forrageira	13
2.2	Cultivo de palma forrageira em regiões semiáridas.....	14
2.3	Associação de bactérias diazotróficas com a palma forrageira.....	16
2.4	Processos promotores de crescimento vegetal realizados por bactérias diazotróficas.	18
2.4.1	Fixação biológica de nitrogênio (FBN)	19
2.4.2	Produção de ácido indol-3-acético (AIA).....	20
2.4.3	Solubilização de fosfato	20
2.5	Estresses abióticos	22
2	METODOLOGIA.....	24
2.1	Aspectos gerais do local de amostragem	24
2.2	Quantificação e isolamento de bactérias fixadoras de nitrogênio/diazotróficas.....	25
2.3	Caracterização fenotípicas das colônias	27
2.4	Triagem das estirpes para solubilização de fosfatos inorgânicos e tolerância a altas temperaturas.....	27
2.5	Triagem das estirpes para produção de ácido indolacético e tolerância a salinidade e ao déficit hídrico	28
2.6	Análises estatísticas	29
3	RESULTADOS	30
3.1	Quantificação de bactérias diazotróficas em solos rizosférico	30
3.2	Diversidade e caracterização fenotípica de bactérias diazotróficas.....	30
3.3	Solubilização de fosfatos inorgânicos e tolerância a altas temperaturas.....	33
3.3.1	Solubilização de fosfatos inorgânicos	34
3.3.2	Tolerância à altas temperaturas	35
3.4	Produção de ácido indolacético (AIA) e tolerância aos estresses salino e hídrico	38
3.4.1	Ácido indolacético (AIA)	38
3.4.2	Tolerância à salinidade e ao déficit hídrico	39

3.5	Agrupamento das estirpes pelas características promotoras de crescimento e tolerância a estresses abióticos	41
3.6	Análise de Componentes Principais (PCA)	42
4	DISCUSSÃO	44
5	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos do solo atuam em diversos processos biológicos capazes de contribuir para a sustentabilidade dos ecossistemas, como a ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, regulação da fertilidade do solo e manutenção da diversidade vegetal. Neste âmbito, as bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCPs) se destacam, pois são capazes de melhorar o crescimento, nutrição e rendimento vegetal diretamente pela síntese de fitohormônios (incluindo auxinas, citocininas e giberelinas), fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a solubilização de fosfatos inorgânicos (Costa; Melo 2012; Silva *et al.*, 2015; Pande *et al.* 2017; Karray *et al.*, 2020). Além disso, BPCPs podem ajudar as plantas a resistirem à estresses abióticos (Arun *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2020).

Dentre os estresses abióticos, destaca-se que secas, temperaturas elevadas e salinidade do solo são fatores de grande preocupação, devido aos seus efeitos desfavoráveis sobre o crescimento das plantas, resultando em sérias reduções na produtividade (Arun *et al.*, 2020; Oléńska *et al.*, 2020). De modo geral, essas condições são prevalentes em regiões áridas e semiáridas em diversos locais do mundo. Assim, evidencia-se o semiárido brasileiro, que ocupa cerca de 12% do território nacional com a maior parte situada na região Nordeste (SUDENE, 2017).

Esta região caracteriza-se por apresentar elevadas temperaturas diurnas, alta radiação solar e evapotranspiração, além de possuir baixa umidade do ar, reduzida precipitação pluviométrica e baixa fertilidade dos solos (Alves *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2021). Nessa região existem duas estações bem definidas, a chuvosa e a seca, na qual a estação seca apresenta predominância de clima quente e extremamente seco, com temperaturas de até 45 °C (Kavamura *et al.*, 2013a). Além disso, o semiárido abrange o bioma Caatinga, que abriga árvores e arbustos altamente adaptados a este clima, com vegetação caracterizada pela presença de plantas da família *Cactaceae*, cujos membros permanecem verdes mesmo durante o verão (Kavamura *et al.*, 2013b).

Neste cenário, um cacto amplamente utilizado especialmente para a alimentação animal é a palma forrageira, cujas espécies mais cultivadas são *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. e *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck (Edvan *et al.*, 2020; Queiroga *et al.*, 2020). Essa forrageira é caracterizada pelo processo fotossintético denominado de metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), permitindo-lhe alta eficiência na utilização da água (Alves *et al.*, 2020) e capacidade de

adaptar-se às condições adversas de clima e solo (Queiroga *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2021). Além disso, possui a capacidade de associar-se a BPCPs, que podem viver associadas às raízes (bactérias associativas), dentro de tecidos vegetais (endofíticas), ou livremente no solo (Costa; Melo, 2012; Silva *et al.*, 2013; Lyra *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2015; Antunes *et al.*, 2017; Draou *et al.*, 2019; Karray *et al.*, 2020; Lyra *et al.*, 2021; Draou *et al.*, 2022; Govindasamy *et al.*, 2022; Platamone *et al.*, 2023).

A bioprospecção de BPCPs associadas à palma forrageira é uma estratégia promissora para o manejo sustentável dessa cultura em condições semiáridas. No entanto, de modo geral, essa associação é pouco estudada no semiárido brasileiro, principalmente para a espécie *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck (Silva *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2015), não havendo ainda nenhum relato, por exemplo, no semiárido piauiense.

É importante ressaltar que bactérias isoladas em condições naturalmente estressantes tendem a ser mais tolerantes, podendo ser vantajosas sobre outras bactérias para prosperar em um novo ambiente estressante, em números suficientes para proporcionar efeitos benéficos com perspectivas de melhoria do crescimento e nutrição das plantas (Niu *et al.*, 2018; Ali *et al.*, 2023; Agunbiade *et al.*, 2024). Assim, é evidente a necessidade de estudos visando a obtenção e seleção de BPCPs tolerantes as condições de estresses predominantes em regiões semiáridas e com potencial de aplicação na palma forrageira e/ou outras culturas de interesse nessas regiões.

Nessa perspectiva, a hipótese do presente estudo foi que diferentes genótipos de palma forrageira abrigam BPCPs específicas capazes de atuarem em diferentes processos promotores do crescimento de plantas e de tolerar a estresses abióticos, como elevadas temperaturas, seca e salinidade. O objetivo desse estudo foi avaliar a diversidade, o potencial biotecnológico e a tolerância à estresses abióticos de bactérias associadas à dois genótipos de palma forrageira no semiárido piauiense.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Aspectos botânicos da palma forrageira

A palma forrageira pertence à classe Magnoliopsida, ordem Caryophyllales e família *Cactaceae* (Iqbal *et al.*, 2018), esta família engloba os cactos, um grupo de plantas suculentas agrupadas nas subfamílias *Opuntioideae*, *Cereoideae* e *Pereskioideae*. A subfamília *Opuntioideae* inclui os gêneros *Pterocactus*, *Opuntia* e *Nopalea* (Ventura-Aguilar, 2017). A palma forrageira é uma planta angiosperma e dicotiledônea, na qual seus caules são denominados de cladódios e seu fruto (de cor vermelha, laranja, amarela ou roxa) referido como nochtli (Iqbal *et al.*, 2018).

Diversos genótipos de palma forrageira são encontrados no Brasil, sendo os mais utilizados para plantio na região semiárida brasileira pertencentes aos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*. Assim, dentre as espécies produtivas é importante evidenciar a *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck, com destaque para os genótipos doce e baiana, os quais possuem características distintas (Alves *et al.*, 2020).

O genótipo doce possui crescimento vertical, cladódios reduzidos e pequenos, formato elíptico mediano, espessura estreita, cor verde-mediana, com quatro aréolas na fila do centro, alterando de 0 a 3 espinhos por aréola, além disso é rico em carboidratos, e possui um elevado percentual de matéria seca. Já o genótipo Baiana apresenta boa produtividade, crescimento vertical, e é rico em carboidratos com cladódios de tamanho mediano, largura pequena, formato elíptico mediano, espessura grossa, de cor verde-amarelada e cinco aréolas na fila do centro, variando de 0 a 4 espinhos (Senar *et al.*, 2018; Voltolini *et al.*, 2022).

Destaca-se que a palma forrageira é adaptada às condições climáticas hostis das regiões semiáridas (chuvas irregulares, altas temperaturas e evaporação e seca do solo), atingindo cerca de 90% do seu peso em água e permanecendo resistente durante toda a estação seca. Ademais, apresenta baixa demanda hídrica e cladódios com grande reserva de água (Silva *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2017), bom valor nutricional e alto potencial produtivo, sendo fonte de energia e carboidratos (Saraiva *et al.*, 2022). Tais características proporcionam estabilidade e segurança no seu cultivo (Reis Filho *et al.*, 2022).

A adaptação desta cactácea às condições climáticas hostis ocorre devido à realização do processo fotossintético denominado de metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) (Edvan *et al.*, 2020; Lyra *et al.*, 2021). Quando a via CAM está operando, as plantas fixam CO₂ à noite utilizando a enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC), resultando em duas particularidades: a acidificação do tecido vegetal pelo armazenamento de ácido málico e a absorção líquida do CO₂ à noite, posteriormente ocorre a liberação de CO₂ durante o dia por uma enzima de descarboxilação seguida de refixação no ciclo de Calvin-Benson-Bassham (Schiller; Bräutigam, 2021). O metabolismo CAM é uma característica comum atribuída a plantas de zonas áridas e epífitas, que necessitam de umidade prontamente disponível no solo, sendo muitas vezes assistida por outros traços associados à limitação de água, como suculência, cutículas cerosas e fotossíntese baseada em caules (Gilman; Edwards, 2019).

Esse metabolismo é uma via adicional à fotossíntese clássica do tipo C₃, e possui a capacidade de aumentar principalmente a eficiência no uso da água (EUA). Dentre as plantas terrestres, as espécies CAM exibem uma maior EUA, acarretando grande interesse para a agricultura sustentável. Deste modo, a utilização de uma fonte de alimentação animal mais adaptada às condições de escassez hídrica torna-se crucial, devido à escassez de alimentos para o gado durante os períodos de seca, especialmente devido à falta de desenvolvimento de pastagens, ser uma das principais dificuldades enfrentadas pelos produtores (Ramos *et al.*, 2021).

2.2 Cultivo de palma forrageira em regiões semiáridas

O cultivo de palma forrageira ocorre em zonas áridas e semiáridas de todo o mundo visando a produção de forragem, frutos e alimentação humana como verdura, sucos, pickles e gelatina, além da produção de cosméticos e itens medicinais (Senar, 2018). No Brasil, estima-se que aproximadamente 147.439 ha do território sejam cultivados com diferentes variedades de palma forrageira, como *Opuntia ficus-indica* (cv. Gigante, Redonda e Clone IPA-20), *Opuntia stricta* (cv. Orelha de Elefante Mexicana) e *Nopalea cochenillifera* (cv. Miúda e IPA-Sertânia) (IBGE, 2017).

Em regiões semiáridas, caracterizadas por longos períodos de seca, é amplamente utilizada para alimentação animal, seja in natura, silagem ou volumoso, em estados como Piauí,

Pernambuco, Bahia e Paraíba, por exemplo (Lucena *et al.*, 2013; Nunes 2017; Carvalho *et al.*, 2020; Edvan *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021). Contudo, essa cultura é utilizada principalmente como recurso forrageiro devido a fácil propagação, alto rendimento de biomassa fresca (163 t ha^{-1}) e de matéria seca ($12,46 \text{ t ha}^{-1}$) (Nascimento Junior *et al.*, 2022). Além disso é importante ressaltar que dentre as diferentes espécies de palma forrageira, *Nopalea cochenillifera* é mais aceita pelos animais, devido ao seu alto teor de carboidratos solúveis, alta produção de massa de forragem e rápido crescimento (Santos *et al.*, 2001).

Sua capacidade produtiva ocorre devido ao metabolismo fotossintético CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), que captura CO_2 à noite, tornando a cultura eficiente no uso da água (Nascimento Junior *et al.*, 2022). Ademais, ela também pode ser utilizada como uma cultura estratégica no combate a áreas em desertificação, devido à capacidade de reduzir ou controlar parcialmente a erosão do solo por intermédio de seu extenso sistema radicular (Iqbal *et al.*, 2018).

O manejo adequado da palma forrageira envolve várias práticas agrícolas, incluindo o preparo do solo, plantio, irrigação, e controle de pragas e doenças. O plantio pode ser feito em covas ou em sulcos, de acordo com o sistema de cultivo escolhido e as exigências da cultura, já a irrigação, apesar de limitada pela disponibilidade de água na região, pode ser utilizada de forma estratégica para garantir a sobrevivência das plantas durante os períodos mais secos (Senar, 2018).

Como quaisquer outras culturas, a palma forrageira necessita de adubação para alcançar alta produtividade, sendo um fator determinante na produção de matéria verde (Pessoa *et al.*, 2022). A extração de nutrientes do solo pela cultura é alta, a ordem de exportação é $\text{K} > \text{Ca} > \text{N} > \text{Mg} > \text{S} > \text{P}$ para fertilização mineral, já pra adubações orgânicas com 60 e $90 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de esterco e fertilização organomineral com $90 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ mais K, a ordem de absorção é $\text{K} > \text{Ca} > \text{N} > \text{Mg} > \text{P} > \text{S}$ (Ledo *et al.*, 2021).

Contudo, é importante destacar que a palma forrageira sofre algumas limitações, visto que não tolera o alagamento e a salinidade do solo (reduz seu crescimento e desenvolvimento), ademais, a presença de cristais de oxalato reduz o fornecimento de cálcio aos animais alimentados com sua forragem. E quanto ao transporte de cladódios para áreas distantes, o maior teor de umidade reduz consideravelmente sua vida útil devido à propensão à invasão microbiana havendo a necessidade de preservação (Iqbal *et al.*, 2018).

Nos sistemas pecuários tradicionais, no semiárido, prevalece a colheita manual e seu cultivo por pequenos agricultores garante o aumento na oferta de alimento para os rebanhos durante o

verão, proporcionando a redução da lotação animal em áreas de vegetação nativa, bem como a redução de gastos com a compra de alimentos para os animais. Com base nisso, a palma forrageira se destaca como um dos recursos com grande potencial para agregar valor e aumentar a renda e a qualidade de vida da população do semiárido brasileiro (Leite *et al.*, 2018; Carvalho *et al.*, 2020).

2.3 Associação de bactérias diazotróficas com a palma forrageira

Os organismos diazotróficos são distribuídos em vários grupos como alfabroteobactérias, gamaproteobactérias, firmicutes, betaproteobactérias e cianobactérias (Bandeppa *et al.*, 2019). Esses microrganismos desenvolveram a capacidade de reduzir nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3), por intermédio do processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) catalisada pela nitrogenase (complexo enzimático sensível ao oxigênio) (Batista; Dixon, 2019). Muitas bactérias diazotróficas, são também denominadas de BPCPs, pois além da FBN, são capazes de atuar em outros processos que contribuem para crescimento vegetal, como a produção de fitohormônios, solubilização de nutrientes, produção de sideróforos, entre outros (Costa; Melo 2012; Silva *et al.*, 2014; Shin *et al.*, 2016; Draou *et al.*, 2022).

A atuação das BPCPs em diferentes processos traz vários benefícios para as plantas, como melhoraria da absorção de nutrientes, inibição da síntese de etileno (Shin *et al.*, 2016), maior aptidão para estresses ambientais bióticos (prevenção de efeitos deletérios de organismos fitopatogênicos) e abióticos (secas e salinidade por exemplo) (Zuluaga *et al.*, 2020) e aumento do rendimento das plantas (Etesami; Maheshwari, 2018). Essas bactérias podem ser encontradas livremente no solo, representando a maioria das bactérias diazotróficas (Ex. *Azospirillum* spp., *Beijerinckia* spp., *Derxia* spp., *Azotobacter* spp., etc.) ou formar diferentes tipos de associações ou simbioses com diversas espécies de plantas (Thiebaut *et al.*, 2022).

As BPCPs que vivem associadas externamente às raízes são denominadas de bactérias associativas (Ex. *Azospirillum* spp., principalmente *A. brasilense* e *A. lipoferum*), enquanto as que vivem dentro de tecidos vegetais são denominadas de endofíticas (Ex. *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans* e *H. frisingense* e *Azoarcus* spp.) e as que formam simbiose com leguminosas, induzindo a formação de nódulos nos tecidos

radiculares são denominadas de rizóbios (Ex. *Rhizobium* spp. *Bradyrhizobium* spp.) (Carvalho *et al.*, 2016; Kaschuk; Hungria, 2017; Reis *et al.*, 2018; Suleiman *et al.*, 2019).

As bactérias associativas rizosféricas proliferam-se na superfície radicular e alimentam-se de exsudatos radiculares (Kaschuk; Hungria, 2017). As endofíticas habitam a parte interna dos tecidos vegetais sem causar danos e desencadear reações de defesa significativas, normalmente entram nos tecidos através de aberturas naturais (estômatos) ou através de fissuras no local de emergência das raízes laterais (Mus *et al.*, 2016).

Bactérias endofíticas podem apresentar uma vantagem sobre as bactérias que habitam a rizosfera, exercendo mais prontamente um efeito benéfico direto, uma vez que facilitam a aquisição de nutrientes essenciais (azoto, fósforo e ferro) ou modulam o nível de hormônios dentro da planta (síntese de fito-hormônios como auxina, citocinina e giberelina ou redução da síntese de etileno). Porém, as bactérias da rizosfera podem ter o potencial de entrar e colonizar as raízes das plantas, sendo uma das principais fontes para a colonização endofítica. Assim, a diversidade bacteriana endofítica pode ser considerada como um subconjunto da comunidade bacteriana da rizosfera e/ou associada à raiz (Santoyo *et al.*, 2016).

De modo geral, são poucos os estudos relacionados a comunidades microbianas diazotróficas associadas à palma forrageira. Antunes *et al.* (2017), trabalhando com palma forrageira (*Opuntia stricta*) irrigada com diferentes lâminas de água salina no semiárido pernambucano, demonstram que a maior quantidade de água salina favoreceu uma maior densidade de bactérias fixadoras de nitrogênio endofíticas da raiz com alta diversidade fenotípica. Lyra *et al.* (2013), apontaram a diversidade de bactérias diazotróficas isoladas em diferentes meios semi-sólidos livres de N em cladódios de sete variedades de palma forrageira (*Opuntia* spp.) no semiárido brasileiro.

Em sua pesquisa, Lyra *et al.* (2021), ao avaliarem associação de bactérias na rizosfera de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) em três áreas de Pernambuco (Sertão, Agreste e Transição), observaram a abundância dos filos Proteobacteria, Actinobacteria e Acidobacteria encontrados em todas as áreas avaliadas. Costa e Melo (2012) determinaram a diversidade de bactérias endofíticas e rizobactérias de *Opuntia ficus-indica* Mill., nos estados da Bahia e Alagoas, quanto a capacidade de fixar nitrogênio, além de realizar outros processos promotores de crescimento como solubilizar fosfato e produzir ácido indolacético (AIA). Os autores verificaram a eficácia na promoção do crescimento de feijão-fradinho, evidenciando a presença dos gêneros

Enterobacter, *Bacillus*, *Ochrobactrum*, *Acinetobacter* e *Stenotrophomonas*, sendo que quatro por cento das linhagens mostraram capacidade de aumentar a matéria seca da raiz de feijão. Silva *et al.* (2014) isolaram microrganismos do interior dos cladódios de 12 variedades palma forrageira (dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*), em Pernambuco, sendo confirmada a presença de bactérias diazotróficas solubilizadoras de fosfato inorgânico associado às palmas cultivadas.

Draou *et al.* (2022) avaliaram o crescimento em meio livre de N, bem como a produção de auxina de bactérias isoladas de raízes de *Opuntia ficus-indica* Mill. Tais bactérias (*Pseudomonas putida* e *P. brassicacearum*) possuíam influência no crescimento do trigo com efeitos benéficos no crescimento radicular, além de amenizar os efeitos do estresse hídrico. Platamone *et al.* (2023) observaram que a inoculação da bactéria promotora de crescimento *Arthrobacter* sp., desempenha um papel na melhoria das propriedades nutricionais e nutracêuticas de plantas de palma forrageira. Por fim, Draou *et al.* (2019) observaram que bactérias endofíticas de raízes, cladódios e frutos de *Opuntia ficus-indica* Mill. em região semiárida da Argélia foram capazes de melhorar o crescimento das plantas e inibir a propagação de fungos fitopatogênicos.

Com base no exposto, é importante destacar que o uso de BPCPs de ocorrência natural na agricultura sustentável ganhou importância na última década devido aos seus efeitos benéficos no solo e na produtividade das culturas. Podendo ser visto como uma tecnologia verde que oferece benefícios econômicos e ambientais positivos possibilitando a redução de fertilizantes químicos nitrogenados (Ramakrishnaa *et al.*, 2019).

2.4 Processos promotores de crescimento vegetal realizados por bactérias diazotróficas

Alguns estudos (descritos nos subtópicos abaixo) abordaram a capacidade das bactérias diazotróficas em proporcionar o crescimento vegetal em cactáceas e em algumas espécies agrícolas, através dos seguintes processos: fixação biológica de nitrogênio, produção de ácido indol-3-acético, solubilização de fosfatos inorgânicos e indução de tolerância das plantas a estresses. Tais estudos apontaram a importância dos processos realizados pelas BPCPs no desenvolvimento de culturas de importância agrícola e das próprias cactáceas. Deste modo, os subtópicos abaixo abordam com maior especificidade cada processo descrito anteriormente.

2.4.1 Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

O nitrogênio (N) é o elemento químico mais abundante na atmosfera e é requerido em grandes quantidades pelos seres vivos, caracterizando-se como parte central de quase todos os compostos proteicos, bem como dos ácidos nucléicos, aminoácidos, proteínas e nucleotídeos, e outros componentes importantes como a clorofila, as membranas e alguns hormônios vegetais (Sharma *et al.*, 2023). No entanto, a forma que este se encontra na atmosfera (N_2) não pode ser utilizada diretamente pelas plantas e outros seres vivos para o crescimento e reprodução, devido a presença de uma tripla ligação muito forte entre seus dois átomos de N.

Esta ligação só pode ser rompida por alguns processos específicos, requerendo uma quantidade significativa de energia (Olanrewaju; Glick; Babalola, 2017). Esta pode ser fornecida por processos industriais como a produção de hidrogênio pela queima do gás natural metano, sendo muito onerosa, ou por processos naturais como relâmpagos e alguns procariotos, denominados de diazotróficos, que possuem energia suficiente para romper o N_2 e transformá-lo em uma forma reativa (Souza; Fernandes, 2018).

Bactérias diazotróficas possuem a capacidade de romper esta tripla ligação por intermédio da fixação biológica, um processo complexo que envolve a ação da enzima nitrogenase, caracterizando-se como um complexo redox ativo que hidrolisa adenosina trifosfato (ATP) para efetuar a redução de N molecular (N_2) (Reis *et al.*, 2018; Souza; Fernandes, 2018). O processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN) é decerto a primeira inovação totalmente realizada por membros de bactérias e archaea, sendo também um entre os serviços ecológicos de suma importância que são oferecidos por micróbios a diferentes eucariontes (Sharma *et al.*, 2023).

A FBN é uma das possíveis alternativas biológicas aos fertilizantes nitrogenados, podendo levar a uma agricultura mais produtiva e sustentável sem prejudicar o meio ambiente (Yadav *et al.*, 2017), destacando-se como um dos processos mais importantes e conhecidos na natureza (Reis *et al.*, 2018). A seleção de bactérias diazotróficas eficientes na FBN em associação com espécies de interesse agrícola ou pastoril, a exemplo da palma forrageira, é uma estratégia promissora para o manejo sustentável das culturas e redução dos custos de produção.

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

O ácido indol-3-acético (AIA) é a principal auxina natural e umas das mais fisiologicamente importantes (Li *et al.*, 2018). Caracteriza-se como uma das auxinas mais bem caracterizadas e essenciais hormônios vegetais, podendo controlar o crescimento das plantas (Duca *et al.*, 2014), além de desempenhar funções cruciais na formação de raízes laterais e adventícias, e no alongamento das raízes (Govindasamy *et al.*, 2022). Além disso o AIA também está envolvido em respostas ao estresse, como secas e estresse por metais pesados (Li *et al.*, 2018).

O principal precursor para a biossíntese de AIA é o triptofano, e sua adição aos meios de cultura resulta em maior produção desta auxina. Este aminoácido é convertido a auxina pela atividade de BPCPs (Sasirekha; Shivakumar; Sullia, 2012; Duca *et al.*, 2014). Draou *et al.* (2022), ao avaliarem raízes de *Opuntia ficus-indica* Mill, perceberam que as bactérias encontradas (*P. putida* e *P.brassicacearum*), capazes de crescer em meio de cultura livre de nitrogênio e produzir AIA, possuíam influência no crescimento do trigo, amenizando os efeitos do estresse hídrico.

Govindasamy *et al.* (2022), isolaram BPCPs (produtoras de AIA) em raízes de *Opuntia ficus-indica* Mill, com traços potenciais de promoção do crescimento de plantas de trigo. Costa e Melo (2012), ao avaliarem bactérias associadas a raízes e cladódios dessa mesma espécie de palma forrageira, verificaram que a matéria seca da raiz aumentou em função da inoculação de bactérias nas sementes, sendo as espécies *Ochrobactrum anthopi* ($0,0765 \pm 0,003 \text{ ml.L}^{-1}$), *Rhodococcus erythropolis* ($0,159 \pm 0,008 \text{ ml.L}^{-1}$) e *Bacillus lentimorbus* ($0,89 \pm 0,017 \text{ ml.L}^{-1}$) as cepas com maior produção de AIA.

Na pesquisa realizada por Torre-Hernández *et al.* (2020), em região de semi-deserto no México, constatou-se que cepas obtidas de cactos nativos apresentaram melhores características de BPCPs (produção de sideróforos, solubilização de fosfato e inibição do crescimento de fungos), dentre elas a produção de AIA. Chávez-Ambriz *et al.* (2016), relataram que bactérias da rizosfera de cactáceas (*Mammillaria magnimamma* e *Coryphantha radians*) apresentam populações microbianas do gênero *Bacillus* com atividades bioquímicas promotoras do crescimento vegetal (incluindo a produção de AIA variando de $6,3 \pm 0,04$ a $26,1 \pm 2,39 \text{ ml.L}^{-1}$), podendo aumentar a germinação de sementes de *M. magnimamma* e a floração em *Mammillari zeilmanniana*.

Ademais, em alguns estudos notou-se que a adição de triptofano no solo juntamente com a inoculação de BPCPs aumenta o potencial dessas rizobactérias. Hassan e Bano (2015), em sua pesquisa, perceberam que a adição de triptofano melhorou o crescimento e a fisiologia do trigo, assim como Naveed *et al.* (2015), relataram que a inoculação de bactérias com adição de triptofano mostrou resultados promissores, aumentando significativamente a altura, a taxa fotossintética, o conteúdo de clorofila, a biomassa radicular e a biomassa aérea na cultura do milho.

2.4.3 Solubilização de fosfato

O fósforo (P) caracteriza-se como um nutriente importante para o crescimento, desenvolvimento e atividades metabólicas das plantas (Ahmad *et al.*, 2018). Esse nutriente possui a capacidade de melhorar a formação das sementes, aumentar o desenvolvimento das raízes, bem como a maturidade das plantas e a fixação biológica de nitrogênio (Billah *et al.*, 2019).

O conteúdo total de fosfato é abundante no solo, no entanto, somente uma pequena quantidade encontra-se disponível para as plantas, deste modo são utilizados fertilizantes fosfatados em excesso para suprir as necessidades das plantas, causando a poluição das águas superficiais e subterrâneas (Mei *et al.*, 2021). Portanto, estratégias que auxiliem na redução do uso desses fertilizantes, são consideradas importantes para preservar os recursos globais de fósforo e minimizar os problemas ambientais (Han; White; Cheng, 2021).

Assim, destaca-se os microrganismos solubilizadores de fosfato (MSFs), tidos como um grupo benéfico que hidrolisa compostos de fósforo orgânicos e inorgânicos a partir de compostos insolúveis (Kalayu, 2019). Dentre esses microrganismos, as bactérias solubilizadoras podem dissolver fosfato indisponível, aumentando a disponibilidade de fósforo no solo (Djuuna; Prabawardani; Massora, 2022), assim como a disponibilidade de fosfato para as plantas, auxiliando de forma positiva a germinação e o crescimento de culturas de interesse agrícola como milho e feijão (Pande *et al.*, 2017; Mei *et al.*, 2021; Alfiansyah *et al.*, 2023).

É importante destacar que nas últimas décadas, houve um incremento nas investigações nessa área, porém com pouca aplicação, em parte devido à falta de conhecimento sobre os MSFs (Mei *et al.*, 2021). Contudo, na cultura da palma forrageira já foram isoladas BPCPs capazes de

solubilizar fosfatos insolúveis, por exemplo, Costa e Melo (2012), constataram cepas de *Enterobacter agglomerans*; *Ochrobactrum anthropia*; *Stenotrophomonas* e *Pseudomonas* sp., capazes de solubilizar fosfato em diferentes meios de cultura (ágar Pikovskaya, NBBIY e NBRIP). Silva *et al.* (2014) observaram que das 52 bactérias diazotróficas endofíticas de cladódio de palma, 46 foram capazes de solubilizar fosfato inorgânico *in vitro* e Govindasamy *et al.* (2022), constatou que actinobactéria endofítica isolada de *Opuntia ficus indica* possui a capacidade de solubilizar fosfato em meio ágar Pikovskaya.

Com base no exposto, ressalta-se que bactérias associadas às plantas, capazes de solubilizar fosfato, são consideradas como uma das alternativas para reduzir o uso dos fertilizantes químicos fosfatados. Neste caso, sua exploração é fundamental tanto para a produção agrícola sustentável quanto para a melhoria da fertilidade do solo, com o objetivo de proteger o meio ambiente do excesso de fertilizantes fosfatados e reduzir os custos de produção (Djuuna *et al.*, 2022).

2.5 Estresses abióticos

As mudanças climáticas destacam-se como um dos grandes desafios que afetam a produção agrícola e contribuem para agravar a frequência e a severidade de muitos estresses não biológicos. Neste âmbito, destaca-se os estresses abióticos como a salinidade dos solos, secas e elevadas temperaturas (Etesami; Maheshwarib, 2019). Dentre esses estresses, a salinização do solo é a mais prejudicial (Daliakopoulos *et al.*, 2016). O limite de condutividade elétrica (CE) aceitável, sem causar danos às culturas é $< 0,7 \text{ dS m}^{-1}$, enquanto acima de $3,0 \text{ dS m}^{-1}$ afeta severamente o rendimento das culturas (Ayers; Westcot, 1985).

A salinidade limita a germinação, o crescimento e o desenvolvimento da maioria das plantas e reduz o rendimento e a produtividade das culturas (Etesami; Maheshwarib, 2019), causando alterações fisiológicas, morfológicas e bioquímicas nas plantas, visto que limita a fotossíntese, causa senescência foliar, reduz o crescimento e a concentração de CO_2 , e causa estresse oxidativo por aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Kumar *et al.*, 2020).

A salinidade do solo pode ocorrer de forma natural e antropogênica. Os processos naturais podem ser a precipitação e a sua subsequente vaporização e derivação do solo a partir do material

de origem, que se destacam como os fatores mais importantes, e além desses pode-se citar também irrigação com água salina e depósitos antigos de sais fósseis naturais encontrados em regiões áridas e semi-áridas (Kumar *et al.*, 2020). Em relação aos fatores antropogênicos, práticas inadequadas de irrigação, drenagem insuficiente e manejo inadequado da terra como a remoção da vegetação, contribuem enormemente para acelerar o processo de salinização do solo (Zhou *et al.*, 2013; Enebe; Babalola, 2018). Contudo, é importante ressaltar que no Nordeste brasileiro áreas salinas são encontradas principalmente em perímetros irrigados localizados em algumas regiões semiáridas (Freire *et al.*, 2014; Pessoa *et al.*, 2016; Barreto, 2023).

Voltando-se para as secas e as elevadas temperaturas, ressalta-se que as zonas semiáridas e áridas ocupam quase 40% da superfície terrestre mundial (Schlaepfer *et al.*, 2017). Nesse contexto, vale evidenciar o semiárido brasileiro, que ocupa cerca de 12% do território nacional com grande parte situado no Nordeste do país (SUDENE, 2017). Essa região é caracterizada por apresentar temperaturas diurnas elevadas, alta radiação solar, baixa umidade do ar (Alves *et al.*, 2020), baixa precipitação pluviométrica, e elevada evapotranspiração causada pelo aumento da temperatura (Pereira *et al.*, 2021).

Com base em projeções climáticas, acredita-se que a região semiárida brasileira enfrentará uma queda drástica na precipitação nos próximos anos, que apontam para temperaturas médias acima de 40 °C e um aumento no número e na duração das secas causando fortes impactos sociais (Ledru *et al.*, 2020). Ademais, a seca é um dos estresses ambientais mais severos que afetam a produtividade das plantas, afetando processos moleculares, bioquímicos, fisiológicos, morfológicos e ecológicos que afetam diretamente o crescimento e o rendimento das culturas. Contudo, as plantas possuem estratégias em sua própria morfologia que auxiliam na resistência a seca, como a fuga (encurtam o ciclo de vida), a evitação e a tolerância ao estresse (características xeromórficas, fatores bioquímicos) (Seleiman *et al.*, 2021).

Com base no exposto, uma estratégia relevante no combate às mudanças abióticas induzida pelo clima que limita o desempenho global das plantas sob estresse de elevadas temperaturas, seca e salinidade do solo, é o uso de BPCPs que auxiliam na redução dos níveis de estresse por intermédio de vários processos como a redução dos níveis de etileno pela produção da enzima ACC desaminase, produção de exopolissacarídeos, produção de auxinas, mudanças da conformação genética (DNA e RNA), dentre outros (Timmusk *et al.*, 2014; Viscardi *et al.*, 2016; Damodarachari *et al.*, 2018; Khan *et al.*, 2020; Santana *et al.*, 2020; Jain; Saraf, 2021; Draou *et al.*, 2022).

2 METODOLOGIA

2.1 Aspectos gerais do local de amostragem

Amostras de solo rizosférico, raízes e cladódios de dois genótipos [doce (G1) e baiana (G2)] de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) foram obtidas aleatoriamente, no período seco (entre maio e setembro de 2023), em uma área experimental do Campus Professora Cinobelina Elvas/Universidade Federal do Piauí (CPCE/UFPI), no município de Bom Jesus-PI, Brasil (09°04' 28"S e 44°21' 31"W), a uma altitude de 220 m com temperaturas médias anuais na faixa 21,1 a 34,6 °C e precipitação média anual de 905,7 mm (Edvan *et al.*, 2020). A região está localizada na porção Nordeste do território brasileiro e apresenta clima tropical semiárido tipo Aw (clima tropical com inverno seco), em consonância com o modelo de classificação de Köppen (Alvares *et al.*, 2013) e áreas de transição Cerrado-Caatinga (Vieira *et al.*, 2013; Corrêa *et al.*, 2019).

Em seis plantas de cada genótipo, coletou-se 100 g de solo rizosférico a 0,1 m de profundidade (Aguirre-Garrido *et al.*, 2012), aproximadamente 1,0 g de raízes e 1 cladódio (médio à superior) por planta. Amostras simples de solo sob cultivo de cada genótipo foram posteriormente homogeneizadas constituindo-se uma amostra composta. Uma fração de cada amostra foi submetida a análises químicas e granulométricas no Laboratório de Análises em Solos (LAS), localizado no CPCE/UFPI, cujos resultados encontram-se descritos na tabela 1. Os solos das áreas de coleta caracterizam-se como Latossolo vermelho-amarelo distrófico (Edvan *et al.*, 2020) e apresentam textura franco argiloso arenosa (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização química das amostras dos solos sob cultivo do genótipo doce (G1) e baiana (G2): pH em água, teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al), hidrogênio + alumínio (H + Al), soma de bases (SB), CTC potencial (T), saturação por bases (V), saturação por alumínio (m) e teores de matéria orgânica (M.O.).

Solos	Ph	H+Al	Al	Ca	Mg	K	SB	T
	H ₂ O	----- cmol _c dm ⁻³ -----						
G1	4.88	4.43	1.13	0.9	0.3	0.04	1.24	5.67
G2	4.58	1.39	0.5	0.6	0.29	0.09	0.97	2.36
Solos	P	K	V	M	M.O	Argila	Silte	Areia
	mg.dm ⁻³	----- g.kg ⁻¹ -----				----- % -----		
G1	35.7	16	21.9	47.5	17.95	272	18	710
G2	21	34	41.1	34	13.01	249	39	713

P, Na e K - Extrator Mehlich1; Ca, Mg e Al - Extrator KCl - 1 mol/L; H + Al - Extrator Acetato de Cálcio a pH 7,0; M.O - método Walkley-Black.

2.2 Quantificação e isolamento de bactérias fixadoras de nitrogênio/diazotróficas

Para determinação da densidade de bactérias diazotróficas presentes no solo rizosférico, 10 g de cada solo de ambos os genótipos foram transferidos para erlenmeyers com 90 mL de solução salina (NaCl 0,85%) estéril, os quais foram agitados (125 rpm) por 30 minutos. Posteriormente, realizou-se diluições sucessivas (10^{-2} a 10^{-5}) em tubo de ensaio de 9 mL, para posterior inoculação de alíquotas de 0,1 mL de cada diluição em frascos contendo 5 mL de meios de cultura semi-sólidos livres de nitrogênio, em triplicata, e posterior quantificação pelo método do número mais provável (NMP) (Dobereiner *et al.*, 1995).

Os meios de cultura utilizados foram os seguintes, modificados de Dobereiner *et al.* (1995): o NFb (*Azospirillum* spp., *A. lipoferum* e *A. brasilense*), composto por (L⁻¹): manitol, 5,0 g; K₂HPO₄, 0,5 g; MgSO₄.7H₂O, 0,2 g; NaCl, 0,1 g; CaCl₂.2H₂O, 0,02 g; solução de micronutrientes 2 mL (CuSO₄.5H₂O, 0,04 g; ZnSO₄.7H₂O, 1,20 g; H₃BO₃, 1,40 g; Na₂MoO₄.2H₂O, 1,0 g; MnSO₄.H₂O, 1,175 g), azul de bromotimol 2 mL (solução 0,5% em 0,2N KOH), Fe-EDTA 4 mL (solução 1,64%), solução de vitaminas 1 mL (10 mg de biotina, 20 mg de piridoxol-HCl), KOH,

4,5 g; ágar L^{-1} , 1,75 a 1,8 g com pH ajustado para 6,5 ou 6,8 (solução de NaOH); e o JNFb (*Herbaspirillum* spp.), contendo (L^{-1}): frutose, 5,0 g; K_2HPO_4 , 0,6 g; K_2HPO_4 , 1,8 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,2 g; NaCl, 0,1 g; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,02g; solução de micronutrientes 2 mL; azul de bromotimol 2 mL; Fe-EDTA 4 mL (solução 1,64%); solução de vitaminas 1 mL; KOH, 4,5 g; ágar 1,75 a 1,8 g, ajustando-se o pH para 5,8 com KOH.

Para o material vegetal (raízes e cladódios), de cada planta de ambos os genótipos, realizou-se desinfestação superficial adaptada de Costa e Melo (2012), submergindo as amostras em etanol 70% por 1 min e hipoclorito de sódio 2,5% por 10 min, e novamente em etanol 70% (30 segundos), seguidos de lavagens sucessivas com água destilada estéril. As extremidades foram descartadas e a porção central cortada em cubos de 0,5 cm, seguidos de inoculação em NFb e JNFb, com cinco repetições por amostra.

Após inoculação das amostras de diluições de solo e do material vegetal nos meios NFb e JNFb, todos os frascos permaneceram incubados por 7 dias à 28 °C em estufa Biochemical Oxygen Demand (BOD), para avaliação da presença de crescimento bacteriano, dada pela formação de película microaerofílica (PM) subsuperficial, o que caracteriza as bactérias como diazotróficas (Dobereiner *et al.*, 1995, Antunes *et al.*, 2017). Para o isolamento destas bactérias, procedeu-se inicialmente a purificação. Para isso, realizou-se a reinoculação de todas as repetições positivas para PM nas amostras endofíticas (Costa; Melo, 2012), e nas duas últimas diluições positivas para as amostras rizosféricas (Antunes *et al.*, 2017).

Após incubação, as novas PMs foram transferidas para meio de cultura batata dextrose ágar com consistência sólida ($15 g L^{-1}$ de ágar) composto por: 200 g de batata; 2,5 g de ácido málico; 2,5 g de açúcar cristal; 2 mL de solução de micronutrientes; e 1 mL de solução de vitaminas, e posteriormente incubados a 28 °C por dois dias (Dobereiner *et al.*, 1995). Colônias morfologicamente distintas foram transferidas para os meios em que foram obtidas (NFb e JNFb), para confirmação da capacidade de formação de PM (Antunes *et al.*, 2017), e posterior caracterização fenotípica.

2.3 Caracterização fenotípicas das colônias

As porções de PMs purificadas nos meios semi-sólidos foram transferidas para meio de cultura batata dextrose ágar (Dobereiner *et al.*, 1995), para realização da caracterização fenotípica, avaliando-se as seguintes características: diâmetro médio das colônias (mm); forma das colônias (circular ou irregular); produção de goma (pouca ou abundante); elevação (plana ou elevada); transparência (translúcida ou opaca) e cor (com ou sem) (Antunes *et al.*, 2017), forma da margem (circular ou irregular), elasticidade (elástica ou não), superfície (lisa ou rugosa), consistência (úmida ou seca) (Eke *et al.*, 2019; Antunes *et al.*, 2022; Ehis-Eriakha *et al.*, 2022).

2.4 Triagem das estirpes para solubilização de fosfatos inorgânicos e tolerância a altas temperaturas

Inicialmente, foram selecionadas estirpes de bactérias diazotróficas obtidas de diferentes amostras (solo rizosférico, raiz e cladódio) de ambos os genótipos e representativas de diferentes grupos, de acordo com a caracterização fenotípica, para avaliação quanto a capacidade de solubilização de fosfatos inorgânicos insolúveis (CaHPO_4 e $\text{AlH}_6\text{O}_{12}\text{P}_3$) e em relação a sua tolerância a altas temperaturas (40, 45 e 50 °C).

O meio utilizado para a solubilização de fosfato de cálcio foi o NBRIP (Nautiyal, 1999), contendo (L^{-1}): glicose, 10 g; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5 g; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,25 g; KCl, 0,2 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 g e ágar 15 g com pH ajustado para 7,0. A capacidade de solubilização de fosfato de alumínio foi avaliada em meio GES (Bradley *et al.*, 1982), contendo (L^{-1}): glicose, 10 g; extrato de solo, 100 mL; MgSO_4 (10%), 2 mL; CaCl_2 (1%), 2 mL; NaCl, 1 mL; solução de micronutrientes, 2 mL ($\text{Ca}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,235 g; H_3BO_3 , 0,28 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,008 g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,024 g dissolvidos em 200 mL de água destilada); Fe-EDTA (1,64%), 4 mL; KNO_3 , 0,1 g; ágar, 20 g; acrescido de 3,04 g de $\text{AlH}_6\text{O}_{12}\text{P}_3$ e pH ajustado para 4,5.

Para obtenção dos inóculos, as estirpes foram cultivadas no meio ágar triptona soja (TSA) à 28 °C. Em seguida, a densidade óptica (DO) foi ajustada em escala Mcfarland número 2 (DO =

0,5), correspondendo a 6×10^8 unidades formadoras de colônia (UFC), com adição de solução salina (0,85%) e 20 μ L das suspensões celulares foram aplicados separadamente (em quatro pontos equidistantes) em placas de Petri já contendo separadamente os meios com precipitados de fosfato. O diâmetro do halo de solubilização, indicada pela zona clara ao redor das colônias, e o diâmetro da colônia, foram medidos após 15 dias de incubação, para obtenção dos índices de solubilização ($IS = \emptyset \text{ halo (mm)} / \emptyset \text{ colônia (mm)}$). As estirpes foram classificadas como baixa ($IS < 2 \text{ mm}$), média ($2 \leq IS < 4,0 \text{ mm}$) e alta ($IS > 4 \text{ mm}$) capacidade de solubilização (Berraquero *et al.*, 1976). Os experimentos (um para estirpes do G1 e outro para estirpes do G2) foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em duplicata, com quatro colônias bacterianas por placa.

Para avaliação da tolerância a altas temperaturas, as estirpes foram cultivadas por 48 horas, a 28 °C, em meio TSA, e após o crescimento, ajustou-se a DO (0,5) em espectrofotômetro (600 nm) com acréscimo de solução salina (0,85%). Após o ajuste, 0,1 mL de suspensão bacteriana foi utilizada como inóculo inicial em 5 mL do meio caldo triptona soja (TSB), em triplicata. Um controle negativo, correspondendo apenas ao meio TSB sem inoculação, foi também utilizado. As culturas foram incubadas em estufa BOD nas diferentes temperaturas (40, 45 e 50 °C) e após 24 horas a absorbância foi medida em espectrofotômetro (600 nm). A tolerância das estirpes foi avaliada com base em três faixas de DO obtidas: não tolerantes ($DO < 0,5$), média tolerância ($DO 0,5 - 0,6$) e boa tolerância ($DO > 0,6$). Apenas estirpes com DO superior a 0,5 foram avaliadas em temperatura superior à anteriormente testada (Damodarachari *et al.*, 2018; Arun *et al.*, 2020).

2.5 Triagem das estirpes para produção de ácido indolacético e tolerância a salinidade e ao déficit hídrico

Para a avaliação da produção de ácido indolacético (AIA) e tolerância aos demais estresses abióticos (salinidade e ao déficit hídrico), foram selecionadas estirpes de ambos os genótipos com base na capacidade de solubilização de fosfatos e/ou tolerância a temperatura de 50 °C. Para essas três análises, os inóculos iniciais foram obtidos e padronizados conforme o da análise de altas temperaturas.

Para avaliação da produção de AIA, alíquotas de 500 μL de soluções bacterianas ajustadas foram transferidas, em triplicata, para frascos com 20 mL de TSB suplementado com 100 mg.L^{-1} de triptofano e incubadas por 72 horas, a 28 °C sob agitação de 110 rpm e posteriormente centrifugadas a 4.000 rpm por 20 minutos. Em seguida, retirou-se 3 mL de sobrenadante e foi adicionado de 2 mL do reagente de Salkowski (Sarwar; Kremer, 1995; Arun *et al.*, 2020).

O material foi reservado por 30 minutos no escuro para o desenvolvimento da coloração rósea, indicativo da produção de AIA. A intensidade da cor foi determinada em espectrofotômetro a 535 nm, e as concentrações do AIA foram estimadas utilizando uma curva padrão previamente obtida com quantidades conhecidas de AIA, variando de 0 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os experimentos foram conduzidos em DIC, com três repetições, para cada genótipo de palma forrageira.

Para avaliação da tolerância à salinidade, o meio TSB foi preparado adicionando NaCl em diferentes concentrações variando de 1% à 10% (1,5%, 3%, 5%, 7,5% e 10%) (Jain; Saraf, 2021; Draou *et al.*, 2022), enquanto para avaliação de tolerância ao déficit hídrico, as estirpes foram avaliadas também em meio TSB, mas sob diferentes potenciais osmóticos por meio de um gradiente de concentração de Polietilenoglicol – PEG 6000 (124,4; 184,1; 230,1; 268,9; 303,2 g 1000^{-1} mL) com os respectivos potenciais osmóticos (PO) (-2, -4, -6, -8, -10 Mpa), conforme proposto por Villela *et al.*, (1991). Para ambas as avaliações, 0,1 mL de suspensões bacterianas ajustadas foram transferidas para o meio TSB com as respectivas concentrações de NaCl e PEG 6000. Após incubação a 28 °C sob condições de agitação (120 rpm) por 24 horas, o crescimento bacteriano foi estimado medindo-se a DO (Damodarachari *et al.*, 2018; Jain; Saraf, 2021). A tolerância das estirpes a salinidade e ao déficit hídrico foi avaliada considerando-se as mesmas faixas de DO descritas para altas temperaturas.

2.6 Análises estatísticas

Os dados fenotípicos obtidos foram utilizados para a construção de um dendrograma de similaridade, utilizando a distância de gower. Os dados obtidos em relação a características de promoção do crescimento e tolerância à estresses abióticos foram avaliados quanto à homogeneidade e normalidade (Bartlett e Shapiro Wilk) e, posteriormente, submetidos à análise

de variância (ANOVA) com médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Posteriormente, foi conduzida uma avaliação simultânea das relações entre as características promotoras de crescimento e estresses abióticos, para cada genótipo, através do mapa de calor e da Análise de Componentes Principais (PCA). Empregando-se o programa estatístico R, para a análise de todos os dados.

3 RESULTADOS

3.1 Quantificação de bactérias diazotróficas em solos rizosférico

Os resultados descritivos da quantificação de bactérias diazotróficas presentes nos solos rizosféricos de ambos os genótipos de *N. cochenillifera* Salm Dyck apresentaram variação tanto nas amostras de solos quanto nos meios de cultura (NFb e JNFb) avaliados (Tabela 2). As médias de densidades obtidas no solo rizosférico do genótipo baiana (G2), em ambos os meios de cultura, foram bem maiores se comparadas as densidades obtidas no solo rizosférico do genótipo doce (G1).

Tabela 2 - Densidade de bactérias diazotróficas de solo rizosférico do genótipo doce (G1) e do genótipo baiana (G2) de *N. cochenillifera* Salm Dyck quantificada pelo método do número mais provável (NMP) em meios de cultura livres de nitrogênio (NFb e JNFb).

Amostras	Genótipo doce		Genótipo baiana	
	NFb	JNFb	NFb	JNFb
	(NMP x 10 ²) bactérias g ⁻¹ solo			
A1	0	2,5	0	0
A2	0,9	0	110	30
A3	0	0	1,1	0,4
A4	1,6	25	30	60
A5	0	2,5	0	0
A6	1,4	2,5	1,1	0,3
Média	0,65	5,42	23,7	22,67

3.2 Diversidade e caracterização fenotípica de bactérias diazotróficas

Observou-se diferentes distribuições de bactérias diazotróficas entre solo, raiz e cladódio em ambos os genótipos de *N. cochenillifera* Salm Dyck (Figuras 1 e 2). Para o G1, foram obtidas um total de 62 estirpes da rizosfera (33), raiz (15) e cladódio (14), com maiores incidência no meio de cultura NFb (64,51%) (Figura 1). Já para o G2, obteve-se um total 43 estirpes, com menor

quantidade no solo (7) e maior na raiz (17) e cladódio (19), sendo a maioria (79,07%) isolada do meio de cultura JNFb (Figura 2). De acordo com a caracterização fenotípica, as estirpes formaram 7 e 5 grupos, para o G1 e G2, respectivamente (Figuras 1 e 2).

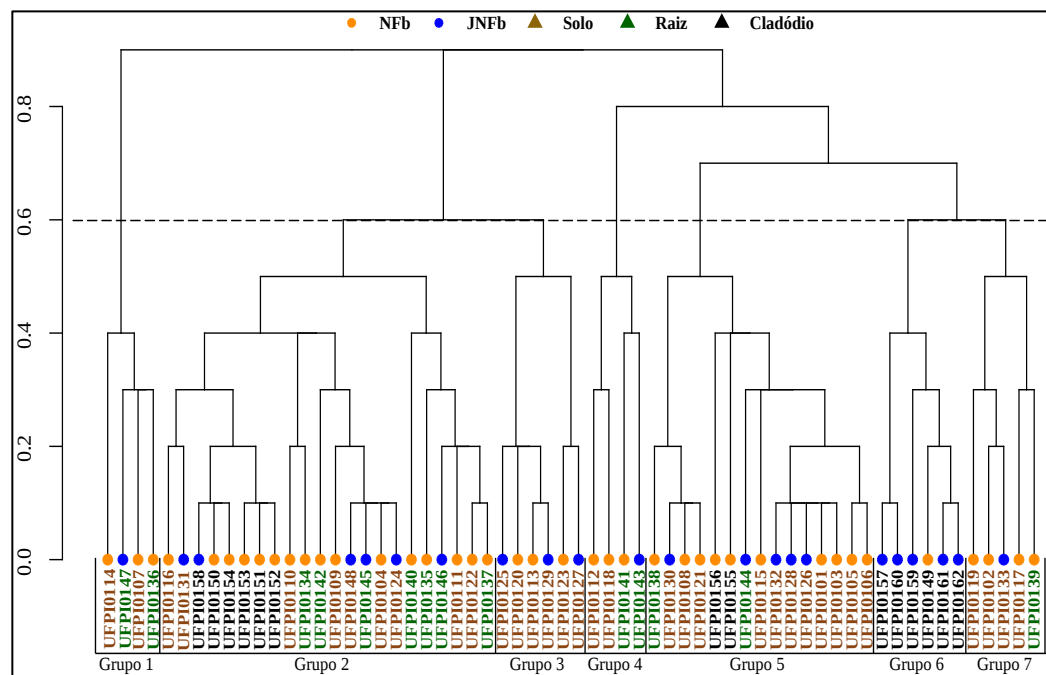


Figura 1 - Dendrograma de similaridade baseado em dez características culturais de estirpes obtidas de amostras de solo rizosférico, raízes e cladódios do genótipo doce (G1) de *N. cochenillifera* Salm Dyck.

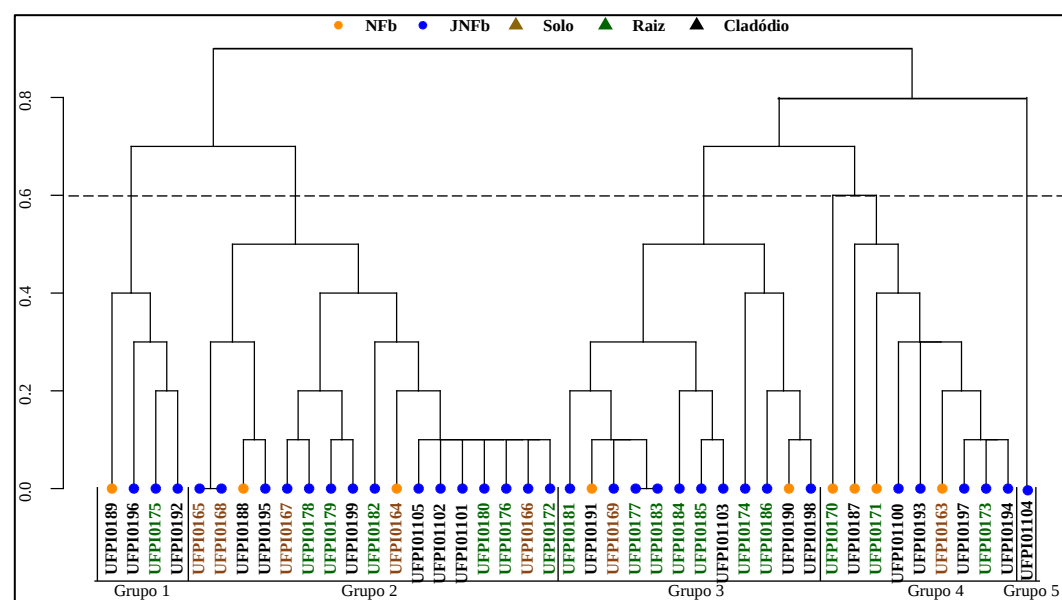


Figura 2 - Dendrograma de similaridade baseado em dez características culturais de estirpes obtidas de amostras de solo rizosférico, raízes e cladódios do genótipo baiana (G2) de *N. cochenillifera* Salm Dyck.

Quanto as características fenotípicas (Figura 3), a maioria das colônias das estirpes do G1 apresentaram forma circular com borda inteira e pouca produção de muco, colônias opacas, elevadas e de superfície lisa, consistência úmida, cor creme e diâmetro menor que 2 mm. Nas estirpes do G2 observou-se em sua maioria colônias de forma circular e borda inteira com pouca produção de muco, elasticidade, translúcidas, planas, com superfície lisa, consistência úmida cor creme e diâmetro menor que 2 mm. Ainda sobre a cor das colônias, é importante destacar que, estirpes obtidas do G1 apresentaram maior diversidade de cores (creme, amarela, branca, marrom e rosa) quando comparadas as estirpes obtidas do G2, as quais foram distribuídas em apenas três cores (creme, amarela e branca).

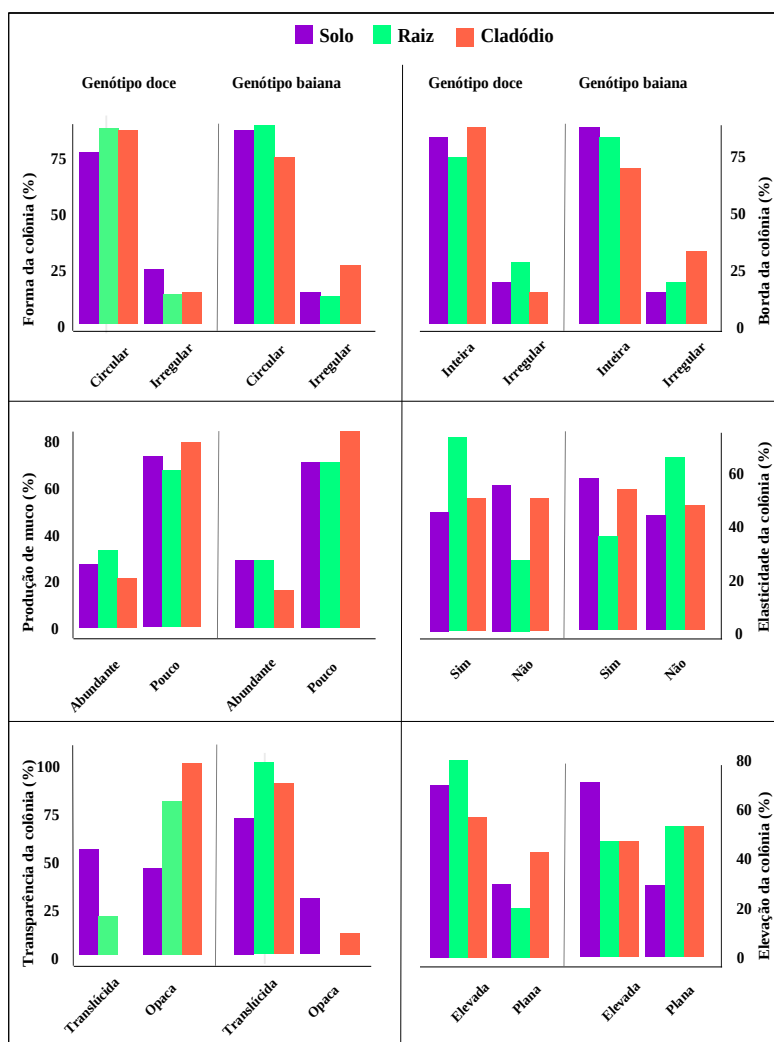


Figura 3 - Características fenotípicas das colônias de estirpes obtidas de amostras de solo rizosférico, raízes e cladódios dos genótipos doce (G1) e baiana (G2) de *N. cochenillifera* Salm Dyck.

3.3 Solubilização de fosfatos inorgânicos e tolerância a altas temperaturas

3.3.1 Solubilização de fosfatos inorgânicos

Um total de 72 estirpes (42 do G1 e 30 do G2), representativas dos diferentes grupos obtidos no dendrograma de similaridade baseado nas características culturais, foram testadas quanto a capacidade de solubilização de fosfatos inorgânicos (Figura 4A e B).

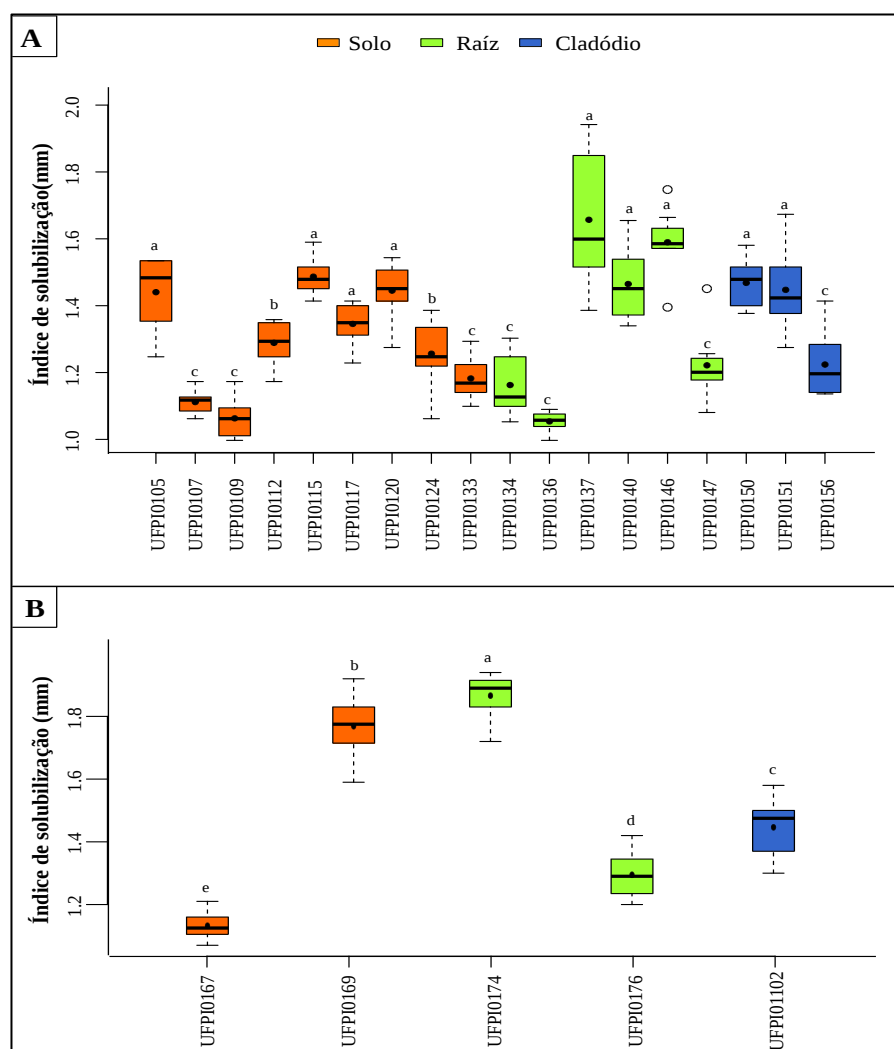


Figura 4 - Índices de solubilização de fosfato de cálcio por bactérias diazotróficas de *N. cochenillifera* Salm Dyck, para os genótipos doce (A) e baiana (B), G1 e G2, respectivamente. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

Nenhuma dessas estirpes apresentou capacidade de solubilizar fosfato de alumínio, no entanto, a solubilização de fosfato de cálcio foi observada em 42,85% das estirpes do G1, e 20,00% do G2, todas apresentando baixa solubilização ($IS < 2 \text{ mm}$) (Figura 4A e B). Contudo, algumas estirpes promoveram médias de IS significativamente mais elevadas que as demais. Para o G1, por exemplo, destacaram-se quatro estirpes da rizosfera (UFPI0105, UFPI0115, UFPI0117 e UFPI0120), três estirpes das raízes (UFPI0137, UFPI0140 e UFPI0146) e duas dos cladódios (UFPI0150 e UFPI0151), apresentando médias de IS superiores as demais (Figura 4A). No G2, a maior média de IS foi obtida com a estirpe UFPI0174, seguida da estirpe UFPI0169, obtidas da raiz e solo, respectivamente (Figura 4B).

3.3.2 Tolerância à altas temperaturas

As mesmas estirpes avaliadas quanto a solubilização de fosfatos, também foram testadas quanto a tolerância a altas temperaturas. De modo geral, as estirpes oriundas dos dois genótipos apresentaram comportamentos semelhantes nas três temperaturas avaliadas, agrupando-se em duas faixas de tolerância (boa tolerância e não tolerantes) na temperatura de 40 °C e em três faixas (boa, média e não tolerantes) nas temperaturas de 45 e 50 °C (Figura 5A e B).

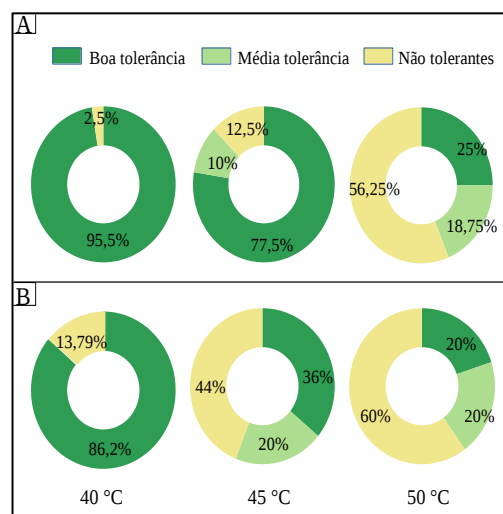


Figura 5 - Níveis de temperatura (40, 45 e 50 °C) e faixas de tolerância das estirpes dos genótipos doce (A) e baiana (B) de *N. cochenillifera* Salm Dyck, G1 e G2, respectivamente, representadas pela densidade óptica (DO): boa tolerância ($DO > 0,6$); média tolerância ($DO 0,5 - 0,6$); e não tolerantes ($DO < 0,5$).

Deve-se enfatizar que o crescimento das estirpes de ambos os genótipos sofreu redução com o aumento da temperatura, dada pela redução das faixas de alta e média tolerância e o aumento de não tolerantes (Figura 5A e B). Porém, de modo geral, observa-se uma maior porcentagem de estirpes associadas ao G1 com boa tolerância as temperaturas de 45 e 50 °C se comparada as estirpes associadas ao G2.

As 32 estirpes que cresceram ($DO > 0,5$) na temperatura de 45 °C e foram testadas na temperatura de 50 °C encontram-se na figura 6. Dentre essas estirpes, apenas 14 cresceram à 50 °C, das quais 10 enquadram-se na faixa de boa tolerância ($DO > 0,6$), sendo cinco da rizosfera (UFPI0109, UFPI0120, UFPI0130, UFPI0131, UFPI0133), quatro endofíticas da raiz (UFPI0134, UFPI0137, UFPI0138, UFPI0140) e uma do cladódio (UFPI0149) (Figura 6A). A estirpe UFPI0109 mostrou-se significativamente mais tolerante a temperatura de 50 °C comparada as demais estirpes associadas ao G1. Para o G2, das 10 estirpes avaliadas, apenas 4 cresceram à 50 °C, das quais duas enquadram-se na faixa de boa tolerância, uma rizobactéria (UFPI0163) e uma endofítica da raiz (UFPI01102) (Figura 6B).

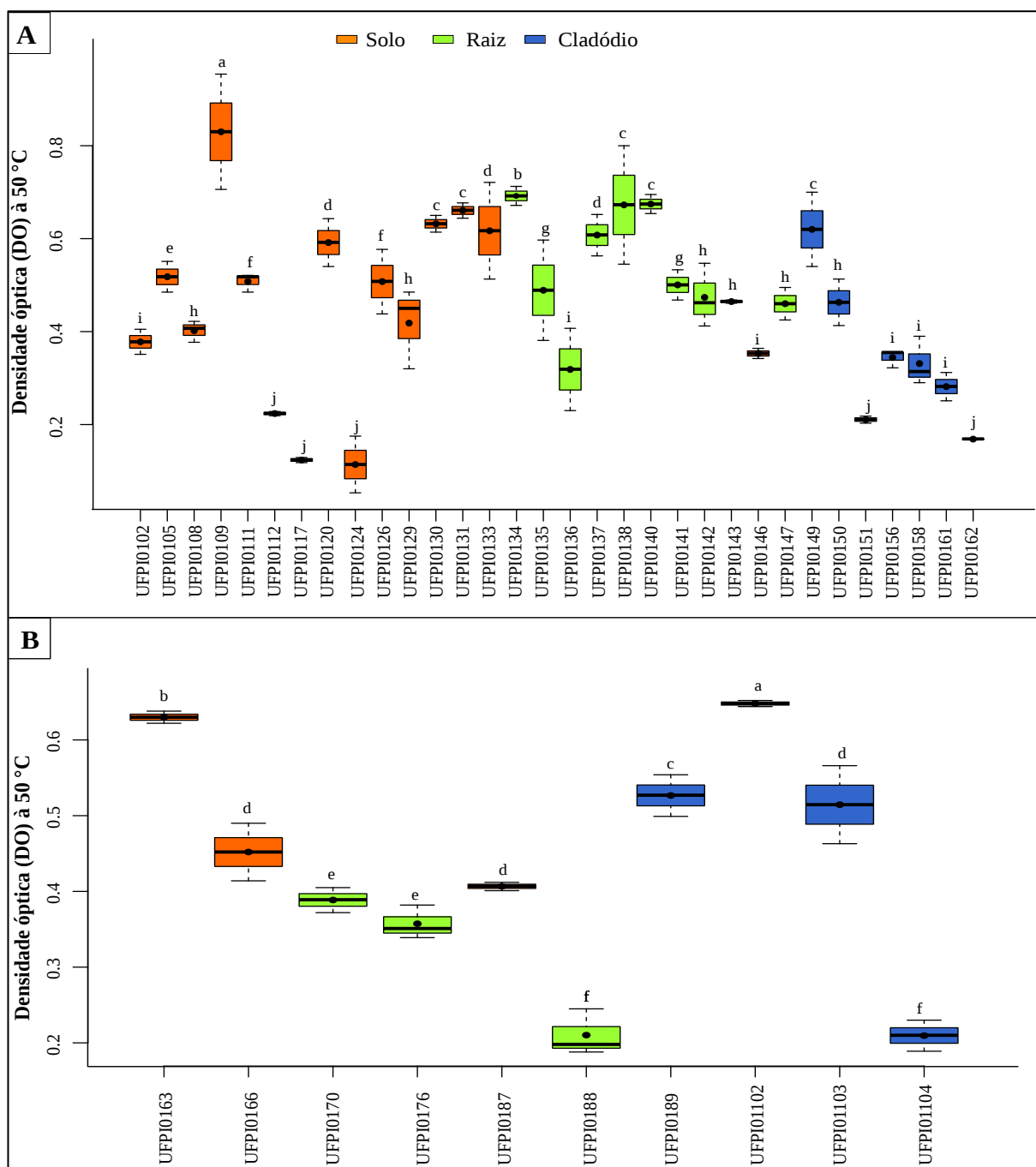


Figura 6 - Densidade óptica de estirpes à uma temperatura de 50 °C, para os genótipos de *N. cochenillifera* Salm Dyck, doce (A) e baiana (B), G1 e G2, respectivamente. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

3.4 Produção de ácido indolacético (AIA) e tolerância aos estresses salino e hídrico

3.4.1 Ácido indolacético (AIA)

As estirpes capazes de solubilizar fosfato e/ou que apresentaram boa tolerância à temperatura de 50 °C, totalizando 28 estirpes (22 do G1 e 6 do G2), foram avaliadas quanto a capacidade de produção de AIA. Todas essas estirpes, à exceção da UFPI0176 (obtida da raiz do G2), possuíram a capacidade de produzir AIA, havendo variação na produção, com diferenças significativas nas médias obtidas entre as estirpes dentro dos diferentes genótipos (Tabela 3).

Tabela 3 - Produção de ácido indolacético (AIA) por bactérias diazotróficas isoladas de diferentes compartimentos (solo rizosférico, raiz e cladódio) dos genótipos doce (G1) e baiana (G2) de *N. cochenillifera* Salm Dyck.

Genótipos	Compartimentos	Estirpes	AIA $\mu\text{g.mL}^{-1}$
Doce	Solo	UFPI0105	9,92 g
		UFPI0107	20,00 f
		UFPI0109	117,62 a
		UFPI0112	13,55 f
		UFPI0115	10,64 f
		UFPI0117	20,00 f
		UFPI0120	9,26 g
		UFPI0124	10,12 g
		UFPI0130	23,45 f
		UFPI0131	9,24 g
		UFPI0133	14,21 f
		UFPI0134	9,79 g
		UFPI0136	13,66 f
		UFPI0137	31,08 c
		UFPI0138	48,71 b
		UFPI0140	4,04 h
		UFPI0146	24,07 e
		UFPI0147	19,44 f
Baiana	Cladódio	UFPI0149	20,36 f
		UFPI0150	20,88 f
		UFPI0151	27,75 d
		UFPI0156	19,18 f
	Solo	UFPI0163	38,21 b
		UFPI0167	24,13 c
		UFPI0169	50,56 a
	Raiz	UFPI0174	46,98 a
		UFPI0176	0,00 e
	Cladódio	UFPI01102	15,23 d

Médias seguidas de letras iguais, dentro de cada genótipo, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Entre as estirpes associadas ao G1, a biossíntese de AIA variou, obtendo-se a concentração mais baixa ($4,04 \mu\text{g mL}^{-1}$) sintetizada pela estirpe UFPI0140 (endofítica da raiz) e a máxima ($117,62 \mu\text{g mL}^{-1}$) pela estirpe UFPI0109 (rizobactéria) (Tabela 3). A UFPI0109 produziu quantidade de AIA significativamente superior às demais estirpes do G1. Além dessa, duas estirpes endofíticas da raiz (UFPI0138 e UFPI0137) e uma endofítica do cladódio do G1 (UFPI0151), destacaram-se das demais. Entre as estirpes do G2, a menor produção foi realizada pelo endofítico da raiz UFPI0176 e a maior pela rizobactéria UFPI0169. As estirpes do G2 que apresentam maior produção de AIA foram a UFPI0169 (rizobactéria) ($50,56 \mu\text{g mL}^{-1}$) e a UFPI0174 (endofítica da raiz) ($46,98 \mu\text{g mL}^{-1}$), seguidas da UFPI0163 (rizobactéria) ($38,21 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Tabela 3).

3.4.2 Tolerância à salinidade e ao déficit hídrico

As mesmas estirpes avaliadas quanto a produção de AIA, foram também testadas quanto a tolerância à salinidade e ao déficit hídrico. Em relação a salinidade, todas as estirpes de ambos os genótipos foram capazes de tolerar até o terceiro nível de NaCl (5%) (Figura 7A e C). Quanto a distribuição nas faixas de tolerância, todas as estirpes associadas ao G1 mostraram boa tolerância nos três níveis de NaCl avaliados (Figura 7A). Para estirpes associadas ao G2, todas enquadraram-se na faixa de boa tolerância dos dois primeiros níveis de NaCl (1,5 e 3%), com presença da faixa de média tolerância (16,67% das estirpes) apenas no último nível (5%) (Figura 7C). Ressalta-se que nenhuma estirpe apresentou DO correspondente à faixa de não tolerantes ($< 0,5$) nos níveis de salinidade avaliados (Figura 7A e C).

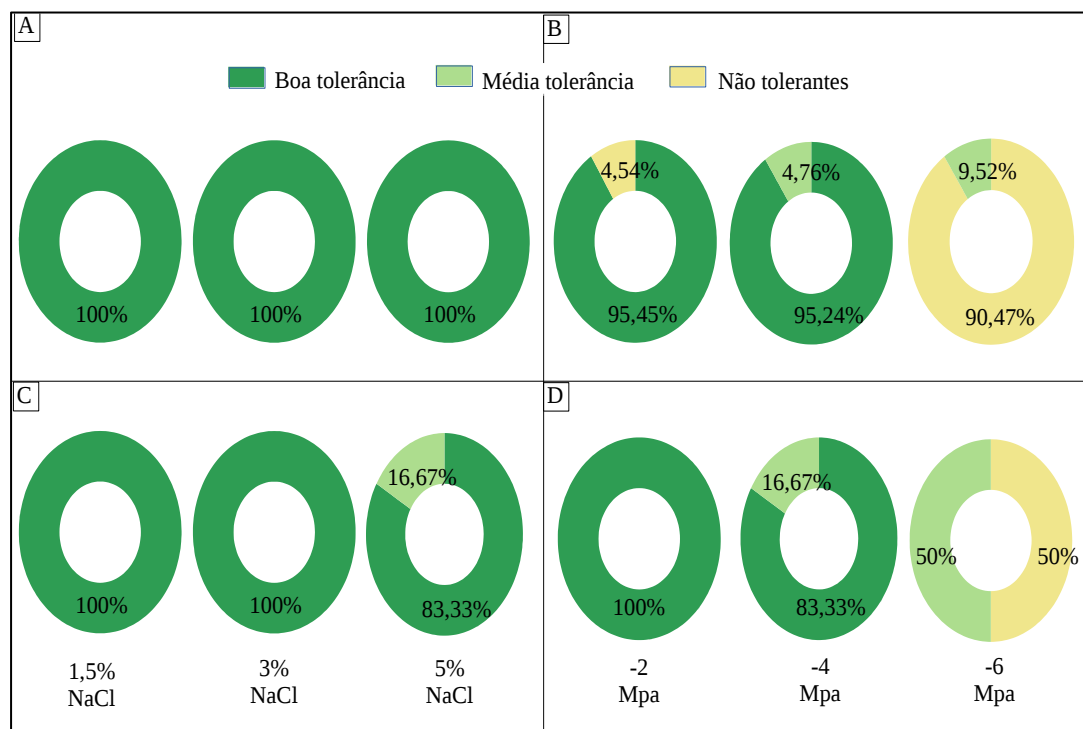


Figura 7 - Níveis de salinidade (1,5, 3 e 5% de NaCl) (A e C) e de potencial osmótico ou estresse hídrico (-2, -4 e -6 Mpa de PEG 6000) (B e D) e faixas de tolerância dos genótipos doce (A e B) e baiana (C e D) de *N. cochenillifera* Salm Dyck, G1 e G2, respectivamente, representadas pela densidade óptica (DO): alta tolerância (DO > 0,6); média tolerância (DO 0,5 – 0,6); e não tolerantes (DO < 0,5).

Quanto ao estresse hídrico (PEG 6000), estirpes associadas ao G1 obtiveram semelhanças nos dois primeiros níveis de PEG 6000, no qual mais de 90% enquadraram-se na faixa de boa tolerância, e menos de 5% em faixas de não tolerantes e de média tolerância, primeiro (-2 Mpa) e segundo (-4 Mpa) níveis, respectivamente. Contudo, no terceiro nível (-6 Mpa) menos de 10% das estirpes enquadraram-se na faixa de média tolerância e mais de 90% foram incapazes de tolerar este nível hídrico (Figura 7B). Quanto ao G2, todas das estirpes demonstraram boa tolerância no primeiro nível hídrico, e nos níveis seguintes (-4 e -6 Mpa) observou-se semelhança com as faixas do G1 (Figura 7D).

3.5 Agrupamento das estirpes pelas características promotoras de crescimento e tolerância a estresses abióticos

As estirpes oriundas de cada genótipo foram subdivididas em três grupos distintos com base em suas características de solubilização de fosfato de cálcio e de boa tolerância a temperatura de 50 °C (Figura 8).

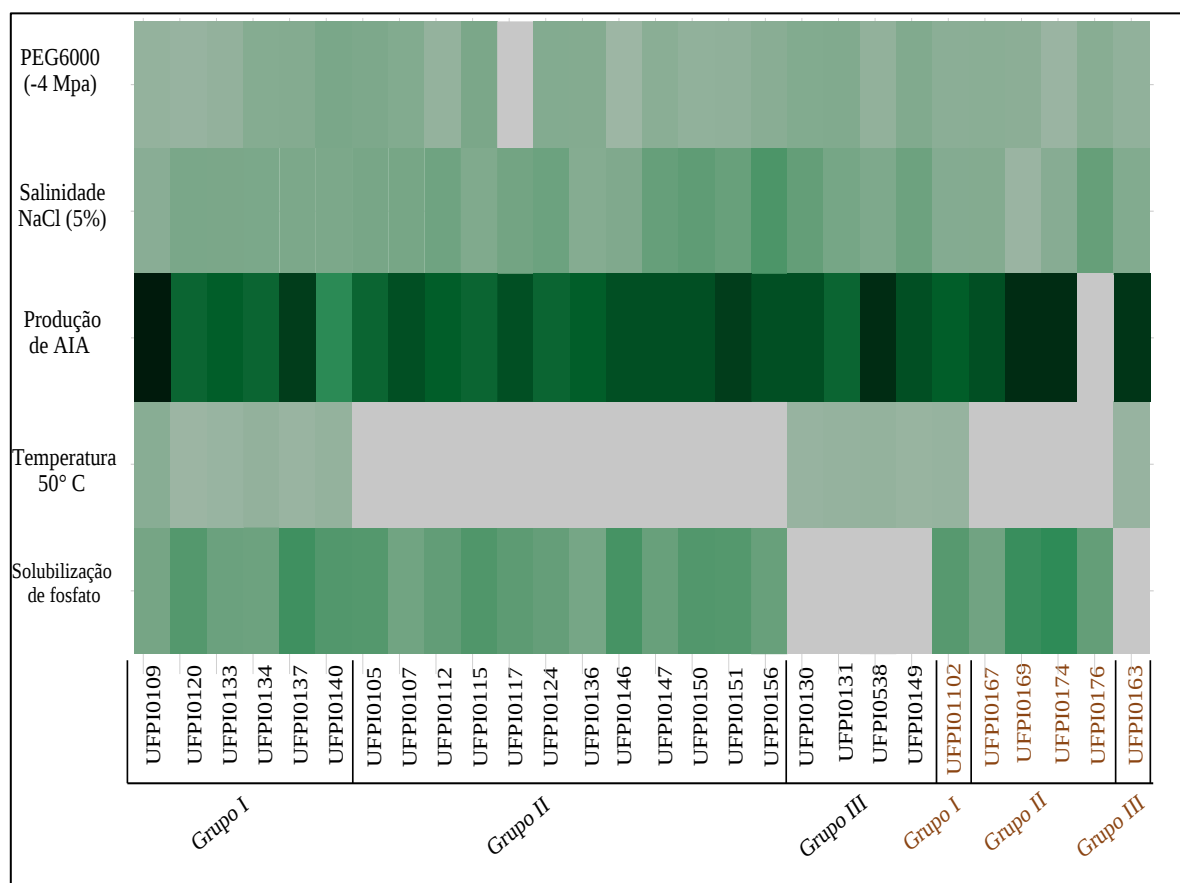


Figura 8 - Mapa de calor apresentando a divisão dos grupos I, II e III agrupando todas as características avaliadas de promoção de crescimento e de estresse abiótico referentes aos genótipos doce (G1) e baiana (G2) de *N. cochenillifera* Salm Dyck, este último destacado na cor marrom. As cores do mapa de calor estão relacionadas com as médias de valores obtidos para as características avaliadas em cada estirpe. Quanto maior a intensidade do verde, maior o valor da média.

O grupo I foi formado por seis estirpes do G1 e uma estirpe do G2 solubilizadoras e capazes de suportar a temperatura imposta; o grupo II, foi composto por doze estirpes do G1 e quatro estirpe do G2 solubilizadoras e incapazes de suportar a temperatura imposta; e o grupo III,

contendo quatro estirpes do G1 e uma estirpe do G2 não solubilizadoras capazes de suportar a temperatura imposta (Figura 8). Os grupos I e II, englobam estirpes com múltiplas características de promoção de crescimento em plantas (exceto a UFPI0176 do G2), embora a capacidade de atuação nos processos seja diferenciada para a maioria das estirpes. Em relação a tolerância aos demais estresses abióticos, estirpes dos grupos I e III possuem a capacidade de tolerar os três tipos de estresse abiótico impostos (Figura 8). Quanto a salinidade e ao déficit hídrico, todas as estirpes cresceram no terceiro (NaCl 5%) e segundo nível (PEG 6000 -4 Mpa), respectivamente (exceto a UFPI0117 do G1), sendo distribuídas nos três grupos.

3.6 Análise de Componentes Principais (PCA)

As estirpes foram agrupadas em um biplot PCA representando as características de promoção de crescimento em plantas (produção de AIA e solubilização de fosfato) e a capacidade de prosperar sob condições de estresse abiótico (temperatura à 50 °C, salinidade à 5% e potencial hídrico à -4 Mpa) (Figura 9). No G1 a projeção respondeu por 60,2% da variação total e a protrusão das diferentes características avaliadas mostrou que as estirpes agrupadas no centro da elipse rosa relacionam-se com todas as características avaliadas (grupo I), estirpes na extremidade inferior e direita da elipse (PC1 e PC2) relacionam-se com a solubilização de fosfato (grupo II) e estirpes na extremidade superior da mesma elipse (PC2) relacionam-se com a temperatura (grupo III). Além disso, percebeu-se que as estirpes UFPI0109 e UFPI0138 obtiveram maior relação com a produção de AIA (Figura 9A).

Para o G2, a variação total correspondeu a 76,7%. Observou-se que as estirpes UFPI0163, UFPI0169 e UFPI0174 tiveram maior relação com a produção de AIA (grupos II e III), e que UFPI0167, UFPI0176 e UFPI01102 (grupos I e II) obtiveram maior relação com a solubilização de fosfato e com os estresses por salinidade e potencial hídrico (Figura 9B).

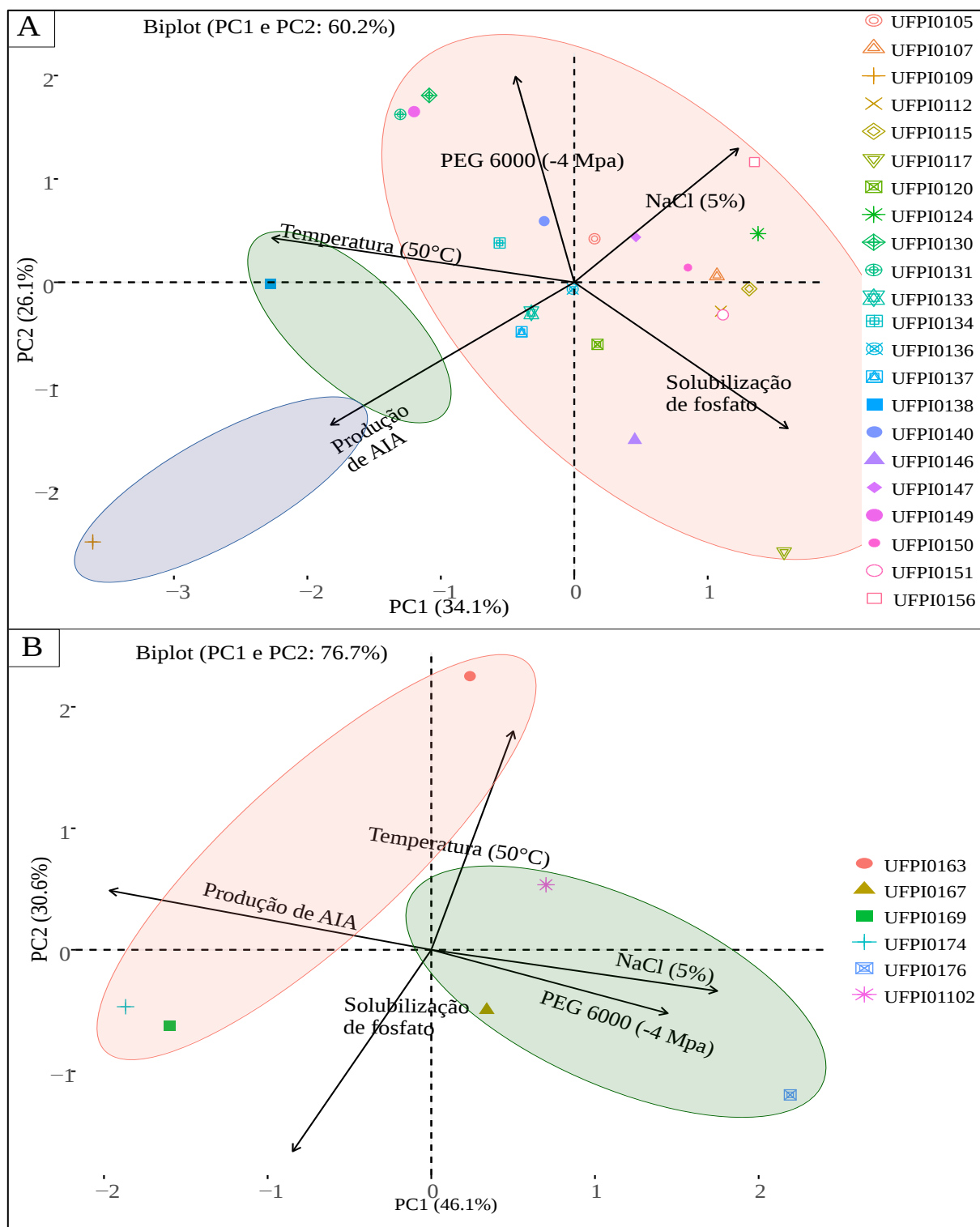


Figura 9 - Análise de componentes principais, biplot exibindo o agrupamento de estirpes bacterianas de *N. cochenillifera* Salm Dyck dos genótipos doce (A) e baiana (B) G1 e G2, respectivamente, com base em suas características de promoção de crescimento em plantas e capacidade de prosperar sob condições de estresse abiótico.

4 DISCUSSÃO

A palma forrageira é uma cactácea adaptada às condições desérticas que pode permanecer produtiva em condições de escassez hídrica (Inglese *et al.*, 2017; Pereira *et al.*, 2021). Diversos grupos de bactérias habitam seus compartimentos e sua rizosfera (Costa; Melo 2012; Beraldo-Borrazzo *et al.*, 2021), auxiliando no crescimento, desenvolvimento e produção desta e de outras culturas de importância agrícola, quando utilizados como inoculantes (Lima *et al.*, 2014; Eke *et al.* 2019, Santos *et al.*, 2020; Govindasamy *et al.*, 2022).

Neste estudo foram avaliados a densidade de bactérias em solo rizosférico, além do potencial biotecnológico e tolerância a estresses abióticos de bactérias diazotróficas associadas a rizosfera, raízes e cladódios de dois genótipos de *N. cochenillifera* Salm Dyck, o genótipo doce (G1) e o genótipo baiana (G2). De modo geral, os genótipos avaliados promoveram diferenças na densidade das bactérias diazotróficas, assim como nas outras características avaliadas. Essas diferenças nas densidades podem ter sido influenciadas pelo genótipo vegetal devido a arquitetura da raiz (Santos *et al.*, 2020), exsudatos liberados (Carvalho *et al.*, 2016), seletividade dos meios de cultura (Lima *et al.*, 2014), e a presença de outros microrganismos no solo (Wang *et al.*, 2021).

Além disso, as distribuições heterogêneas entre rizosfera e endosfera das estirpes bacterianas, com G1 apresentando maior diversidade na rizosfera e G2 na endosfera, podem ter sido influenciados por uma ampla variedade de fatores ambientais e relacionados ao hospedeiro, incluindo compartimento, genótipo e fenótipo, localização geográfica, estação do ano e química do solo (Karray *et al.*, 2020), além do teor de conteúdo orgânico e condições físicas do solo (Ehis-Eriakha *et al.*, 2022), como gases, temperatura e água do solo. Adicionalmente, essas diferenças observadas entre G1 e G2 confirmam que o genótipo vegetal exerce grande influência na distribuição das bactérias (Fonseca-García *et al.*, 2016). Além disso, a maior espessura dos cladódios do G2 (Edvan *et al.*, 2020), pode ter contribuído para o maior número de bactérias endofíticas encontradas neste compartimento.

Além dos fatores citados acima, a colonização dos dois genótipos por bactérias morfológicamente distintas pode ter sido influenciada também por outros fatores, destacando-se o reconhecimento de sinais químicos e nutrientes dos exsudatos radiculares, produção de biofilme e motilidade bacteriana (Santoyo *et al.*, 2021). Em relação a diversidade de coloração, observada

principalmente em estirpes associadas ao G1, ressalta-se que a produção de pigmentos é um fenômeno comum para vários organismos, podendo representar uma vantagem evolutiva para muitas espécies de bactérias (Antunes *et al.*, 2022).

Quanto aos processos promotores de crescimento em plantas (PPCPs), convém ressaltar que bactérias com múltiplas características de promoção de crescimento em plantas, como por exemplo a capacidade de fixar N₂, solubilizar fosfatos inorgânicos e produzir AIA, como observado para 18 estirpes associadas ao G1 e 4 estirpes associadas ao G2, possuem potencial para melhorar o desenvolvimento, a nutrição e a produtividade da espécie hospedeira e outras culturas, aumentando também a resistência a estresses abióticos (Etesami; Maheshwari, 2018; Albdaawi *et al.*, 2019).

Com base no exposto, sabe-se que a FBN é uma das possíveis alternativas biológicas aos fertilizantes nitrogenados, podendo levar a uma agricultura mais produtiva e sustentável sem prejudicar o meio ambiente (Yadav *et al.*, 2017), destacando-se como um dos processos mais importantes e conhecidos na natureza (Reis *et al.*, 2018). No presente estudo, foram obtidas mais de 100 estirpes de bactérias diazotróficas, das quais uma parcela também é capaz de atuar em outros PPCPs, podendo contribuir para uma produção agrícola mais sustentável.

Quanto a solubilização de fosfatos inorgânicos insolúveis, bactérias solubilizadoras possuem a capacidade de contribuir para o aumento da disponibilidade e manutenção do equilíbrio de fósforo do solo (Haiyambo *et al.*, 2015). De modo geral, o conteúdo total de fosfato é abundante nos solos, porém somente uma pequena quantidade encontra-se disponível para as plantas, sendo necessária a utilização de altas doses de fertilizantes químicos fosfatados para suprir as necessidades das plantas (Mei *et al.*, 2021).

Assim, a aplicação de bactérias eficientes na solubilização de fosfatos é uma das alternativas para aumentar a eficiência de uso e/ou reduzir a utilização desses fertilizantes na agricultura. Neste estudo um total de 23 estirpes (de ambos os genótipos de palma forrageira) possuíram capacidade de solubilizar fosfato de cálcio, com potencial para uma eventual produção agrícola mais sustentável e também para a melhoria da fertilidade do solo.

Bactérias produtoras de AIA têm grande potencial na promoção do crescimento das plantas (Li *et al.*, 2021). No nosso estudo, das 28 estirpes avaliadas, 27 foram capazes de sintetizar o AIA com variações na biossíntese em ambos os genótipos. Tais variações podem ocorrer devido a

fatores ambientais, taxas de crescimento, disponibilidade de aminoácidos e outras fontes de N (Vega-Celedón *et al.*, 2016), composição dos meios de cultivo (Costa *et al.*, 2016), dentre outros.

Convém salientar, que a biossíntese de AIA no nosso estudo foi registrada na presença de L-triptofano no meio de cultura. Como esse aminoácido é um dos precursores mais conhecidos nas vias de biossíntese de AIA, na sua presença as estirpes bacterianas podem produzir mais auxina (Zhang *et al.*, 2021). Dependendo da quantidade produzida e da sensibilidade tecidual às mudanças na concentração, a produção de AIA por bactérias, pode afetar de forma positiva ou negativa o processo de crescimento vegetal (Herlina *et al.*, 2017). Em cactáceas, têm sido relatadas somente respostas positivas, acarretando a promoção do crescimento vegetal em diferentes concentrações de AIA (Torre-Hernández *et al.*, 2020; Draou *et al.*, 2022).

Voltando-se para o estresse abiótico, ressalta-se que este pode causar efeitos deletérios sobre a comunidade bacteriana, porém algumas estirpes possuem a capacidade fisiológica e metabólica para tolerar tais condições (Santos *et al.*, 2020). Essa tolerância pode ocorrer devido a plasticidade fenotípica e/ou reversível ajuste de fenótipos individuais, alteração de RNA e DNA (Banga *et al.*, 2018), produção de biofilme (Yin *et al.*, 2019), e composição de proteínas (Wani *et al.*, 2021). Para as condições de salinidade e seca, de forma mais específica, inclui-se a produção de fitormônios (incluindo o AIA) e da enzima ACC desaminase, acúmulo de osmólitos, maior disponibilidade de nutrientes, degradação de espécies reativas de oxigênio (EROS), produção de compostos orgânicos voláteis e produção de exopolissacarídeos (Etesami; Maheshwari, 2018).

Assim, adicionalmente as características de promoção do crescimento vegetal, é importante a avaliação das estirpes de BPCPs em relação a sua capacidade de tolerar diferentes condições de estresse abiótico, especialmente quando se pretende aplicá-las como biofertilizantes em espécies vegetais como as cactáceas, que geralmente são cultivadas sob condições estressantes (Ex. altas temperaturas, escassez hídrica e salinidade) nas regiões áridas e semiáridas. No nosso estudo, embora o nível de tolerância tenha sido variável, a maioria das estirpes, especialmente do G1, relacionaram-se com todas as características de promoção do crescimento e tolerância aos estresses abióticos avaliados (Figura 9), demonstrando claramente o potencial de uso dessas bactérias no cultivo da palma forrageira sob essas condições de estresses.

A aplicação de BPCPs capazes de tolerar condições de estresses abióticos aumentam os atributos de crescimento das plantas (produção de fitohormônios), e além disso, bactérias isoladas em condições naturalmente estressantes são geralmente mais tolerantes (Ali *et al.*, 2023;

Agunbiade *et al.*, 2024). O presente trabalho contribui para o conhecimento do papel de bactérias associadas a palma forrageira com múltiplas características de PPCPs e tolerância á estresses abióticos. Assim, o futuro uso dessas bactérias benéficas poderá melhorar o crescimento e a produtividade da palma forrageira ou outras culturas suscetíveis à altas temperaturas, a seca e/ou solos salinos.

Dentre as estirpes avaliadas no nosso estudo, destaca-se como mais promissoras para uso como bioinoculantes seis obtidas do G1 (UFPI0109, UFPI0120, UFPI0133, UFPI0134, UFPI0137 e UFPI0140) e uma estirpe do G2 (UFPI01102) integrantes do grupo I (Figura 8), pois foram capazes de atuar em múltiplos processos de promoção do crescimento, além de apresentar boa tolerância a uma temperatura de 50 °C, uma concentração de NaCl de 5% e um potencial osmótico de -4 Mpa. Além dessas, outras duas estirpes associadas ao G1 (UFPI0146, UFPI0150) e uma associada ao G2 (UFPI0174), embora não tenham tolerado a temperatura de 50 °C, foram capazes de crescer em potencial osmótico de -6 Mpa, tolerar a temperatura de até 45 °C, além de atuar nos processos de promoção do crescimento, demonstrando também grande potencial de uso.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a diversidade fenotípica e fisiológica, além do potencial de promoção do crescimento vegetal (fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato de cálcio e produção de AIA) e a tolerância a estresses abióticos (altas temperaturas, salinidade e déficit hídrico) de bactérias diazotróficas isoladas dos genótipos doce e baiana de *N. cochenillifera* Salm Dyck. As estirpes UFPI0109, UFPI0120, UFPI0133, UFPI0134, UFPI0137, UFPI0140, UFPI0146 e UFPI0150, associativas do genótipo doce e as estirpes UFPI0174 e UFPI01102, do genótipo baiana, apresentam grande potencial de uso como inoculantes na palma forrageira em região semiárida, visto que apresentam múltiplas características de promoção de crescimento e resistem aos diferentes tipos de estresses abióticos, podendo futuramente contribuir com uma agricultura mais resiliente e sustentável.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-GARRIDO, J. F.; MONTIEL-LUGO, D.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C.; TORRES-CORTES, G.; MILLÁN, V.; TORO, N.; MARTÍNEZ-ABARCA, F.; RAMÍREZ-SAAD, H. C. Bacterial community structure in the rhizosphere of three cactus species from semi-arid highlands in central Mexico. **Springer Science and Business Media**, v. 101, p. 891-904, 2012.
- AGUNBIADE, V. F.; FADIJI, A. E.; AGBODJATO, N. A.; BABALOLA, O. O. Isolation and characterization of plant-growth-promoting, drought-tolerant rhizobacteria for improved maize productivity. **Plants**, v. 13, p. 12-98, 2024.
- AHMAD, M.; AHMAD, M.; EL-NAGGAR, A. H.; USMAN, A. R.; ABDULJABBAR, A.; et al. Efeitos do envelhecimento de fertilizantes orgânicos e inorgânicos no fracionamento do fósforo em solo franco-arenoso calcário. **Pedosphere**, v. 28, p. 873-883, 2018.
- ALBDAIWI, R. N.; KHYAMI-HORANI, H.; AYAD, J. Y.; ALANANBEH, K. M.; AL-SAYAYDEH, R. Isolation and characterization of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria from durum wheat (*Triticum turgidum subsp. durum*) cultivated in saline areas of the dead sea region. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1-16, 2019.
- ALFIANSYAH, M. F.; ZULKIFLI, L.; RASMI, D. A. C. The effect of phosphate-solubilizing bacteria and IAA producers from cactus rhizosphere on the germination of *Vigna sinensis* L. **Jurnal Biologi Tropis**, v. 23, n. 3, p. 607-618, 2023.
- ALI, S.; AHMAD, M.; HAMAYUN, M.; ALREFAEI, A. F. Rhizobacteria containing ACC deaminase enhance plant growth and tolerance under abiotic stress conditions. **Journal Advances of Nutrition Science and Technology**, v. 3, p. 72-77, 2023.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONCALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorological Journal**, v. 22, p. 711-728, 2013.
- ALVES, F. A. L.; SANTOS, D. C.; SILVA, S. M. S.; SILVA, M. C.; MELLO, D. R. Metabolismo fotossintético de variedades de palma forrageira cultivadas no Semiárido brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 25, p. 22622-52020, 2020.
- ANTUNES, G. R.; CARVALHO, B. R.; SILVA, T. R.; NEIVA, J. N. M.; ARAÚJO, G. G. L.; FERNANDES-JÚNIOR, P. I. Quantification and characterization of putative diazotrophic bacteria from forage palm under saline water irrigation. **Revista Geama**, v. 4, p. 1-8, 2017.
- ANTUNES, J. E. L.; FREITAS, A. D. S.; BONIFACIO, A.; OLIVEIRA, L. M. S.; SANTOS, C. E. R. S.; LYRA, M. C. C. P.; OLIVEIRA, J. P.; OLLERO, F. J.; ARAÚJO, A. S. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Isolation and characterization of plant growth-promotion diazotrophic

endophytic bacteria associated to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) grown in Paraíba, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, p. 11-13, 2022.

ARUN, K. D.; SABARINATHAN, K. G.; GOMATHY, M.; KANNAN, R.; BALACHANDAR, D. Mitigation of drought stress in rice crop with plant growth-promoting abiotic stress-tolerant rice phyllosphere bacteria. **Journal of Basic Microbiology**, v. 60, p. 768-786. 2020.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **Water quality for agriculture**. Vol. 29. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1985.

BANDEPPA, S.; LATHA, P. C.; PHULE, A. S.; G, R.; BABU, K. V. P.; BARBADIKAR, K. M.; C, C.; BABU, M. B. B. P.; MANDAL, P. K.; SUNDARAM, R. M. Isolation, identification and characterization of efficient free-living nitrogen-fixing bacteria from rice rhizosphere ecosystem. **Journal of Rice Research**, v. 12, n. 2, p. 38-44, 2019.

BANGA, C.; DAGANA, T.; DEINESB, P.; DUBILIERC, N.; DUSCHLD, W. J. et al. Metaorganisms in extreme environments: do microbes play a role in organismal adaptation?. **Zoology**, v. 1, p. 1-19, 2018.

BARRETO, A. C.; NETO, M. F.; OLIVEIRA, R. P.; MOREIRA, L. C. J.; MEDEIROS, J. F.; SÁ, F. V. S. Comparative analysis of spectral indexes for soil salinity mapping in irrigated areas in a semi-arid region, Brazil. **Journal of Arid Environments**. v. 23, p. 104888, 2023.

BATISTA, M. B.; DIXON, R. Manipulating nitrogen regulation in diazotrophic bacteria for agronomic benefit. **Biochemical Society Transactions**, v. 47, n. 2, p. 603-614, 2019.

BERALDO-BORRAZZO, J.; MANGOLIN, C. A.; MACHADO, M. F. P. S. Prospecção biotecnológica de bactérias endofíticas associadas à cactáceas. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 12, p. 567-579, 2021.

BERRAQUERO, F. R.; BAYA, A. M.; CORMENZANA, A. R. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **Ars Pharmaceutica**, v. 17, p. 399-406. 1976.

BILLAH, M.; KHAN, M.; BANO, A.; HASSAN, T. U.; MUNIR, A.; GURMANI, A. R. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: keys for sustainable agriculture. **Geomicrobiology Journal**, v. 36, n. 10, p. 904-916, 2019.

BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; TORRACA, S. L.; PEREIRA, R. M. Quantitative survey of phosphate solubilizing microorganisms in the rhizosphere of grasses and legumes in the Amazon. **Acta Amazonica**, v. 12, p. 15-22, 1982.

CARVALHO, C. B. M.; LOIOLA EDVAN, R.; NASCIMENTO, K. S.; NASCIMENTO, R. R.; BEZERRA, L. R.; JÁCOME, D. L. S.; SANTANA JÚNIOR, H. A. Métodos de armazenamento de genótipos de palma forrageira para alimentação animal. **African Journal of Range & Forage Science**, v. 37, n. 2, p. 173-179, 2020.

CARVALHO, T. L. G.; BALLESTEROS, H. G. F.; THIEBAUT, F.; FERREIRA, P. C. G.; HEMERLY, A. S. Nice to meet you: genetic, epigenetic and metabolic controls of plant perception of beneficial associative and endophytic diazotrophic bacteria in non-leguminous plants. **Plant Molecular Biology**, v. 90, p. 561-574, 2016.

CHÁVEZ-AMBRIZ, L. A.; HERNÁNDEZ-MORALES, A.; CABRERA-LUNA, J. A.; LUNA-MARTÍNEZ, L.; PACHECO-AGUILAR, J. R. Aislados de bacillus provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp. (Cactaceae). **Revista Argentina de Microbiología**, v. 48, n. 4, p. 333-341, 2016.

CORRÊA, A. C. B.; TAVARES, B. A. C.; LIRA, D. R.; MUTZENBERG, D. S.; CAVALCANTI, L. C. S. **The semi-arid domain of the Northeast of Brazil**. In: SALGADO, A.; SANTOS, L.; PAISANI, J. (eds). The physical geography of Brazil: geography of the physical environment. Springer: Cham, 2019. p. 119-150.

COSTA, E. M.; CARVALHO, F.; NÓBREGA, R. S. A.; SILVA, J. S.; MOREIRA, F. M. S. Bacterial strains from floodplain soils perform different plant-growth promoting processes and enhance cowpea growth. **Scientia Agricola**, v. 73, p. 301-310, 2016.

COSTA, F. E. C.; MELO, I. S. Endophytic and rhizospheric bacteria from *Opuntia ficus-indica* Mill and their ability to promote plant growth in cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, p. 1345-1353, 2012.

DALIAKOPOULOS, I. N.; TSANIS, I. K.; KOUTROULIS, A.; KOURGIALAS, N. N.; VAROUCHAKIS, A.; KARATZAS, G. P.; RITSEMA, C. J. The threat of soil salinity: a european scale review. **Science of the Total Environment**, v. 573, p. 727-739, 2016.

DAMODARACHARI, K.; REDDY, R. S.; TRIVENI, S.; RANI, C. V. D.; SREEDHAR, M. Isolation and molecular characterization of abiotic stress tolerant plant growth promoting *Pseudomonas* spp. from different rhizospheric soils of Telangana State, India. **Int. J. Bioresource and Stress Management**, v. 9, p. 611-619, 2018.

LUCENA, C. M.; et al. Uso e conhecimento de Cactaceae no Nordeste do Brasil. **Revista de Etnobiologia e Etnomedicina**, v. 9, p. 1-11, 2013.

DJUNA, I. A. F.; PRABAWARDANI, S.; MASSORA, M. Distribuição populacional de microrganismos solubilizadores de fosfato em solo agrícola. **Microbes and Environments**, v. 37, n. 1, p. e21041, 2022.

DJUUNA, I. A. F.; PRABAWARDANI, S.; MASSORA, M. Population distribution of phosphate-solubilizing microorganisms in agricultural soil. **Microbes and Environments**, v. 37, n. 1, p. 1-8, 2022.

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

DRAOU, N.; GHARBI, S.; SELAMI, N.; BOKHARI, H.; KEBAILI, H. Effect of endophytic bacteria from Algerian prickly pear roots on wheat under drought stress. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 14, p. 418-425, 2022.

DRAOU, N.; SELAMI, N.; KARKACHI, N.; KACEM, M.; HARCH, M. K. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from *Opuntia ficus-indica* and their effect on Wheat growth. **Asian journal of experimental biological sciences**, v. 9, p. 255, 2019.

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

EDVAN, R. L.; MOTA, R. R. M.; DIAS-SILVA, T. P.; NASCIMENTO, R. R.; SOUSA, S. V.; SILVA, A. L.; ARAÚJO, M. J.; ARAÚJO, J. S. Resilience of cactus pear genotypes in a tropical semi-arid region subject to climatic cultivation restriction. **Scientific Reports**, v. 10, p. 1-10, 2020.

EHIS-ERIAKHA, C. B.; WILLY-VIDONA, C.; AKEMU, S. E. Isolation and molecular characterization of diazotrophic bacteria in arable soils. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, p. 1436-1449, 2022.

EKE, P.; KUMAR, A.; SAHU, K. P.; WAKAM, L. N.; SHEORAN, N.; ASHAJYOTHI, M.; PATEL, A.; FEKAM, F. B. Endophytic bacteria of desert cactus (*Euphorbia trigonas* Mill) confer drought tolerance and induce growth promotion in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Microbiological Research**, v. 228, p. 126-302, 2019.

ENEBE, M. C.; BABALOLA, O. O. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance to abiotic stress: a survival strategy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 18, p. 7821-7835, 2018.

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

FONSECA-GARCÍA, C.; COLEMAN-DERR, D.; GARRIDO, E.; VISEL, A.; TRINGE, S. G.; PARTIDA-MARTÍNEZ, L. P. The cacti microbiome: interplay between habitat-filtering and host-specificity. **Frontiers in Microbiology**, v. 1, p. 1-16, 2016.

FREIRE, M. B. G. S.; MIRANDA, M.F.A.; OLIVEIRA, E.E.M.; SILVA, L.E.; PESSOA, L.G.M.; ALMEIDA, B.G. Agrupamento de solos quanto à salinidade no perímetro irrigado de Custódia em função do tempo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 86-91, 2014.

GILMAN, I. S.; EDWARDS, E. J. Crassulacean acid metabolism. **Current Biology**, v. 30, p. 51-63, 2020.

- GOVINDASAMY, V.; GEORGE, P.; RAMESH, S. V.; SURESHKUMAR, P. R. J.; MINHAS, P. S. Characterization of root-endophytic actinobacteria from cactus (*Opuntia ficus-indica*) for plant growth promoting traits. **Archives of Microbiology**, v. 204, p. 1-14, 2022.
- HAIYAMBO, D. H.; CHIMWAMUROMBE, P. M.; REINHOLD-HUREK, B. Isolation and screening of rhizosphere bacteria from grasses in east kavango region of namibia for plant growth promoting characteristics. **Current Microbiology**, v. 71, p. 566-571, 2015.
- HAN, Y.; WHITE, P. J.; CHENG, L. Mechanisms for improving phosphorus utilization efficiency in plants. **Annals of Botany**, v. 129, n. 3, p. 247-258, 2021.
- HASSAN, T. U.; BANO, A. The stimulatory effects of L-tryptophan and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on soil health and physiology of wheat. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 190-201, 2015.
- HERLINA, L.; PUKAN, K. K.; MUSTIKANINGTYAS, D. The endophytic bacteria producing IAA (Indole Acetic Acid) in *Arachis hypogaea*. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 1, p. 31-35, 2017.
- INGLESE, P.; LIGUORI, G.; BARRERA, B. **Ecophysiology and reproductive biology of cultivated cacti**. In: INGLESE, P.; MONDRAGÓN, C.; NEFZAOU, A.; SÁENZ, C. Crop Ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear. Food and Agriculture Organization and International Center for Agricultural Research in the Dry Areas: Rome. 2017. p. 29-41.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário 2017**. Rio de Janeiro, 2017.
- IQBAL, M.A.; HAMID, A.; IMTIAZ, H.; RIZWAN, M.; IMRAN, M.; SHEIKH, U.A.A.; SAIRA, I. Cactus Pear: a weed of dry-lands for supplementing food security under changing climate. **Planta Daninha**, v. 38, p. 1-14, 2020.
- JAIN, R.; SARAF, M. Exploring the abiotic and biotic stress tolerance potential of rhizobacteria isolated from cyamopsis. **Journal of Advanced Scientific Research**, v. 3, p. 190-199, 2021.
- KALAYU, G. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, v. 2019, n. 917256, p. 1-7, 2019.
- KARRAY, F.; GARGOURI, M.; CHEBAANE, A.; MHIRI, N.; MLIKI, A.; SAYADI, S. Climatic aridity gradient modulates the diversity of the rhizosphere and endosphere bacterial microbiomes of *Opuntia ficus-indica*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1-15, 2020.
- KASCHUK, G.; HUNGRIA, M. Diversity and importance of diazotrophic bacteria to agricultural sustainability in the tropics. **Tropics**, v. 1, n. 1, p. 269-292, 2017.
- KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. L.; PARMA, M. M.; ÁVILA, V. A.; ZUCCHI, T. D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. Screening of Brazilian

cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, v. 168, p. 183-191, 2013.

KAVAMURA, V. N. b; TAKETANI, R. G.; LÂNCONI, M. D.; ANDREOTE, F. D.; MENDES, R.; MELO, I. S. Water regime influences bulk soil and rhizosphere of *Cereus jamacaru* bacterial communities in the Brazilian Caatinga Biome. **Plos One**, v. 8, p. 1-10, 2013.

KHAN, M. A.; ASAF, S.; KHAN, A. L.; ADHIKARI, A.; JAN, R.; ALI, S.; IMRAN, M.; KIM, K.-M.; LEE, I.-J. et al. Plant growth-promoting endophytic bacteria augment growth and salinity tolerance in rice plants. **Plant Biology**, v. 22, p. 850-862, 2020.

KUMAR, A.; SINGH, S.; GAURAV, A. K.; SRIVASTAVA, S.; VERMA, J. P. Plant growth-promoting bacteria: biological tools for the mitigation of salinity stress in plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1-15, 2020.

LEDO, A. A.; DONATO, S. L. R.; ASPIAZÚ, I.; SILVA, J. A.; BRITO, C. F. B.; DONATO, P. E. R. Nutritional balance and recovery rate of macronutrients by ‘Gigante’ cactus pear under different fertilizations. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25, n. 2, p. 82-89, 2021.

LEDRU, M. P.; JESKE-PIERUSCHKA, V.; BREMOND, L.; DEVELLE, A. L.; SABATIER, P.; MARTINS, E. S. P. R.; FREITAS FILHO, M. R.; FONTENELE, D. P.; ARNAUD, F.; FAVIER, C. When archives are missing, deciphering the effects of public policies and climate variability on the Brazilian semi-arid region using sediment core studies. **Science of the Total Environment**, v. 723, p. 137989, 2020.

LEITE, J. R. A.; SALES, E. C. J. D.; MONÇÃO, F. P.; GUIMARÃES, A. D. S.; RIGUEIRA, J. P. S.; GOMES, V. M. Palma forrageira adubada com N: características morfológicas, produtivas e nutricionais. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences, v. 40, 2018.

LI, S-W.; ZENG, X-Y.; LENG, Y.; FENG, L.; KANG, X-H. Indole-3-butyric acid mediates antioxidative defense systems to promote adventitious rooting in mung bean seedlings under cadmium and drought stresses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, p. 332-341, 2018.

LI, X.; YAN, J.; LI, D.; JIANG, Y.; ZHANG, Y.; WANG, H.; ZHANG, J.; AHMED, T.; LI, B. et al. Isolation and molecular characterization of plant-growth-promoting bacteria and their effect on eggplant (*Solanum melongena*) growth. **Agriculture**, v. 11, p. 12-58, 2021.

LIMA, J. V. L.; WEBER, O. B.; CORREIA, D.; SOARES, M. A.; SENABIO, J. A. Endophytic bacteria in cacti native to a Brazilian semi-arid region. **Plant and Soil**, v. 389, p. 25-33, 2014.

LYRA, M. C. C. P.; SANTOS, D. C.; MONDRAGON-JACOBO, C.; SILVA, M. L. R. B.; MERGULHÃO, A. C. E. S.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Isolation and molecular characterization of endophytic bacteria associated with the culture of forage cactus (*Opuntia* spp.). **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 1, p. 11-16, 2013.

LYRA, M. C. C. P.; TAKETANI, R. G.; FREITAS, A. D.; SILVA, C. E. R. S. E.; MERGULHÃO, A. C. E. S.; SILVA, M. L. R. B.; ANTUNES, J. E. L. S.; ARAÚJO, A. S. F.; GIACHETTO, P. F. Structure and diversity of bacterial community in semiarid soils cultivated with pricklypear cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 3, p. e20190183, 2021.

MEI, C.; CHRETIEN, R. L.; AMARADASA, B. S.; HE, Y.; TURNER, A. et al. Characterization of phosphate solubilizing bacterial endophytes and plant growth promotion in vitro and in greenhouse. **Microorganisms**, v. 1, p. 1-11, 2021.

MUS, F.; CROOK, M. B.; GARCIA, K.; GARCIA COSTAS, A.; GEDDES, B. A.; KOURI, E. D.; PARAMASIVAN, P.; RYU, M-H.; OLDROYD, G. E. D.; POOLE, P. S.; UDVARDI, M. K.; VOIGT, C. A.; ANÉ, J-M.; PETERS, J. W. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. **Applied Environmental Microbiology**, v. 82, p. 3698-3710, 2016.

NASCIMENTO JÚNIOR, J. R. S.; MAGALHÃES, A. L. R.; SOUSA, D. R.; BEZERRA, J. D. C.; MELO, A. A. S.; GOIS, G. C.; CAMPOS, F. S.; SANTOS, K. C.; PEREIRA, K. D.; AZEVEDO, O. S.; SANTOS, L. M. Bean meal and cactus pear in Santa Inês lamb rations for meat production: Intake, digestibility, performance, carcass yield, and meat quality. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 20, n. 2, 2022.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 170, p. 265-270, 1999.

NAVEED, M.; QURESHI, M. A.; ZAHIR, Z. A.; HUSSAIN, M. B.; SESSITSCH, A.; MITTER, B. L-Tryptophan-dependent biosynthesis of indole-3-acetic acid (IAA) improves plant growth and colonization of maize by *Burkholderia phytofirmans* PsJN. **Annals of Microbiology**, v. 65, p. 1381-1389, 2015.

NIU, X.; SONG, L.; XIAO, Y.; GE, W. Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1-8, 2018.

NUNES, V. X.; NUNES, N. X.; LONDE, L. N.; OLIVEIRA, C. G.; INOUE, N. A. M.; ROCHA, S. S.; CALAES, J. G. Physico-chemical characterization of prickly pear (*Opuntia Ficus indica*) in the Semi-arid region of Bahia State, Brazil. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 51, p. 3537-3541, 2017.

OLANREWaju, S. O.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 197, n. 33, p. 1-16, 2017.

OLÉNSKA, E.; MAŁEK, W.; WÓJCIK, M.; SWIECICKA, I.; THIJS, S.; VANGRONSVELD, J. et al. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: a methodical review. **Science of the Total Environment**, v. 743, p. 1-21, 2020.

- PANDE, A.; PANDEY, P.; MEHRA, S.; SINGH, M.; KAUSHIK, S. Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, p. 1-13, 2017.
- PEREIRA, M. O.; RAMOS, J. G.; TOMAZ, B. A.; CABRAL, J. H. A.; PEREIRA, M. C. A.; AZEVEDO, C. A. V.; LYRA, G. B.; SILVA, P. F. Growth of forage palm cultivars irrigated with saline waters. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, p. 1421-1434, 2021.
- PESSOA, L. G. M.; FREIRE, M. B. G. S.; GREEN, C. H. M.; MIRANDA, M. F. A.; FILHO, J. C. A.; PESSOA, W. R. L. Assessment of soil salinity status under different land-use conditions in the semiarid region of Northeastern Brazil. **Ecological Indicators**, v. 141, p. 109-139, 2022.
- PLATAMONE, G.; PROCACCI, S.; MACCIONI, O.; BORROMEO, I.; ROSSI, M.; BACCHETTA, L.; FORNI, C. *Arthrobacter* sp. Inoculation improves cactus pear growth, quality of fruits, and nutraceutical properties of cladode. **Current Microbiology**, v. 80, p. 266, 2023.
- QUEIROGA, V. P.; LOPES, E. B.; GIRÃO, Ê. G.; FIGUEIREDO NETO, A.; ALBUQUERQUE, E. M. B. **Sistema de produção da palma forrageira**. In: QUEIROGA, V. P. (ed). Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) – tecnologias de plantio e utilização. Campina Grande: AREPB, 2020.
- RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Bactérias promotoras do crescimento de plantas na agricultura: dois lados de uma moeda. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019.
- RAMOS, J. P. F.; MACÊDO, A. J. S.; SANTOS, E. M.; EDVAN, R. L.; SOUSA, W. H., et al. Forage yield and morphological traits of cactus pear genotypes. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 43, p. 2-11, 2021.
- REIS FILHO, R. J. C.; CARNEIRO, M. S. S.; PEREIRA, E. S.; FURTADO, R. N.; MORAIS NETO, L. B.; MAGALHÃES, J. A.; ALVES, F. G. S.; LOPES, M. N. Biomass components and water use efficiency in cactus pear under different irrigation systems and harvest frequencies. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 51, p. e20210093, 2022.
- REIS, V. M.; JESUS, E. C.; SCHWAB, S.; OLIVEIRA, A. L. M.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa**. In: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. Nutrição mineral de plantas. 2º ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa. 2018. p. 492-562.
- SANTANA, S. R. A.; VOLTOLINI, T. V.; ANTUNES, G. R.; SILVA, V. M.; SIMÕES, W. L.; MORGANTE, C. V.; FREITAS, A. D. S.; CHAVES, A. R. M.; AIDAR, S. T.; FERNANDES-JUNIOR, P. I. Inoculation of plant growth-promoting bacteria attenuates the negative effects of drought on sorghum. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 5, p. 1015-1024, 2020.
- SANTOS, A. F. J.; MORAIS, J. S.; MIRANDA, J. S.; MOREIRA, Z. P. M.; FEITOZA, A. F. A.; LEITE, J.; FERNANDES-JÚNIOR, P. I. Cacti-associated rhizobacteria from Brazilian Caatinga

biome induce maize growth promotion and alleviate abiotic stress. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, p. 1-10, 2020.

SANTOS, D. C.; SANTOS, M. V. F.; FARIAS, I.; DIAS, F. M.; LIRA, M. A. Desempenho produtivo de vacas 5/8 Holando/Zebu alimentadas com diferentes cultivares de palma forrageira *Opuntia* e *Nopalea*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 12-17, 2001.

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. D. C.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, n. 1, p. 92-99, 2016.

SANTOYO, G.; URTIS-FLORES, C. A.; LOEZA-LARA, P. D.; OROZCO-MOSQUEDA, M. D. C.; GLICK, B. R. Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **Biology**, v. 10, p. 475, 2021.

SARAIVA, F. M.; DUBEUX, J. C. B. J.; CUNHA, M. V.; MENEZES, R. S. C.; SANTOS, M. V. F.; CAMELO, D.; FERRAZ, I. Performance of forage cactus intercropped with arboreal legumes and fertilized with different manure sources. **Agronomy**, v. 12, n. 1, p. 2-11, 2022.

SARWAR, M.; KREMER, R. J. Enhanced suppression of plant growth through production of L-tryptophan derived compounds by deleterious rhizobacteria. **Plant and Soil**, v. 172, p. 261-269, 1995.

SASIREKHA, B.; SHIVAKUMAR, S.; SULLIA, S. B. Statistical optimization for improved indole-3- acetic acid (IAA) production by *Pseudomonas aeruginosa* and demonstration of enhanced plant growth promotion. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 12, n. 4, p. 863-873, 2012.

SCHILLER, K.; BRÄUTIGAM, A. Engineering of crassulacean acid metabolism. **Annual Review of Plant Biology**, v. 72, n. 1, p. 77-103, 2021.

SCHLAEPFER, D. R.; BRADFORD, J. B.; LAUENROTH, W. K.; MUNSON, S. M.; TIETJEN, B.; HALL, S. A.; WILSON, S. D.; DUNIWAY, M. C.; JIA, G.; PYKE, D. A. Climate change reduces extent of temperate drylands and intensifies drought in deep soils. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2017.

SELEIMAN, M. F.; AL-SUHAIBANI, N.; ALI, N.; AKMAL, M.; ALOTAIBI, M.; REFAY, Y.; DINDAROGLU, T.; ABDUL-WAJID, H. H.; BATTAGLIA, M. L. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 259, 2021.

SENAR - Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Palma forrageira**: cultivo de palma forrageira no Semiárido brasileiro. 3ª ed., Brasília: SENAR, 2018. 51 p.

SHARMA, P.; SANGWAN, S.; KAUR, H.; PATRA, A.; ANAMIKA, METHA S. Diversity and Evolution of Nitrogen Fixing Bacteria. **Sustainable Agriculture Reviews**, v. 60, p. 95-120, 2023.

SHIN, W.; ISLAM, R.; BENSON, A.; JOE, M. M.; KIM, K.; GOPAL, S.; SAMADDAR, S.; BANERJEE, S.; SA, T. Role of diazotrophic bacteria in biological nitrogen fixation and plant growth improvement. **Korean Journal of Soil Science and Fertilizer**, v. 49, n. 1, p. 17-29, 2016.

SILVA, J. A.; BONOMO, P.; DONATO, S. L. R.; PIRES, A. J. V.; ROSA, R. C. C.; DONATO, P. R. Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes espaçamentos e adubações químicas. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 7, n. 1, p. 866-875, 2012.

SILVA, M. L. R. B. A.; FIGUEIRÔA, C. S.; MERGULHÃO, A. C. E. S.; LYRA, M. C. C. P. Identificação de bactérias diazotróficas isoladas em cultivares de palma (*Opuntia* e *Nopalea*) usando o gene recA. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 2, p. 577-583, 2015.

SILVA, M. L. R. B. b; FIGUEROA, C. S.; MERGULHÃO, A. C. E. S.; LYRA, M. C. C. P. Diversidade e potencial de solubilização de fosfato in vitro por bactérias endofíticas associadas à cultura da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 19, p. 85-88, 2014.

SILVA, M. V.; et al. Monitoramento espaço-temporal de indicadores de solo e plantas sob cultivo de palma forrageira por geoprocessamento no semiárido brasileiro. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 107, p. 103155, 2021.

SILVA, T. G. F.; ARAÚJO, G. G. L.; MOURA, M. S. B.; SOUZA, L. S. B. Agrometeorological research on forage cactus and its advances in Brazil. **Amazonian Journal of Plant Research**, v. 1, n. 2, p. 45-68, 2017.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. (eds). **Nutrição mineral de plantas**. Minas Gerais: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 2018. p. 492-562.

SUDENE. **Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste**. 2017. Disponível em: <http://antigo.sudene.gov.br/delimitacao-do-semiarido>. Acesso em: 28 de novembro de 2023.

SULEIMAN, M. K.; QUORESHI, A. M.; BHAT, N. R.; MANUVEL, A. J.; SIVADASAN, M. T. Divulging diazotrophic bacterial community structure in Kuwait desert ecosystems and their N₂-fixation potential. **Plos One**, v. 14, n. 12, p. 1-21, 2019.

THIEBAUT, F.; URQUIAGA, M. C. O.; ROSMAN, A. C.; SILVA, M. L.; HEMERLY, A. S. The impact of non-nodulating diazotrophic bacteria in agriculture: understanding the molecular mechanisms that benefit crops. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, p. 11301, 2022.

TIMMUSK, S.; ABDEL-DAIM, I. A.; COPOLOVICI, L.; TANILAS, T.; KÄNNASTE, A.; et al. Drought-Tolerance of Wheat Improved by Rhizosphere Bacteria from Harsh Environments:

Enhanced Biomass Production and Reduced Emissions of Stress Volatiles. **Plos One**, v. 9, n. 5, 2014.

TORRE-HERNÁNDEZ, M. E. L.; SALINAS-VIRGEN, L. L.; AGUIRRE-GARRIDO, J. F.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, A. J.; MARTÍNEZ-ABARCA, F.; MONTIEL-LUGO, D.; RAMÍREZ-SAAD, H. C. Composition, structure, and PGPR traits of the rhizospheric bacterial communities associated with wild and cultivated *Echinocactus platyacanthus* and *Neobuxbaumia polylopha*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1-17, 2020.

VEGA-CELEDÓN, P.; MARTÍNEZ, H. C.; GONZÁLEZ, M.; SEEGER, M. Review biosynthesis of indole-3-acetic acid and plant growth promoting by bacteria. **Cultivos Tropicales**, v. 37, p. 33-39, 2016.

VENTURA-AGUILAR, R. I.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; RIVERA-CABRERA, F. Cactus stem (*Opuntia ficus-indica* Mill): anatomy, physiology and chemical composition with emphasis on its biofunctional properties. **Science of Food and Agriculture**, n. 79, p. 5065-5073, 2017.

VIEIRA, R. M. S. P.; CUNHA, A. P. M. A.; ALVALÁ, R. C. S.; CARVALHO, V. C.; NETO, F. S.; SESTINILAND, M. S. Use and land cover map of a semiarid region of Brazil for meteorological and climatic models. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 28, p. 129-138, 2013.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 1957-1968, 1991.

VISCARDI, S.; VENTORINO, V.; DURAN, P.; MAGGIO, A.; PASCALE, S.; MORA, M. L.; PEPE, O. Assessment of plant growth promoting activities and abiotic stress tolerance of *Azotobacter chroococcum* strains for a potential use in sustainable agriculture. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 16, n. 3, p. 848-863, 2016.

VOLTOLINI, T. V.; OLIVEIRA, A. R. de; SALVIANO, A. M.; MOURA, M. S. B.; ARAUJO, G. G. L. **Sistema de produção de palma-forrageira para o Estado da Paraíba**. Embrapa Semiárido. 2022, p. 1-70.

WANG, H.; LIU, R.; YOU, M. P.; BARBETTI, M. J.; CHEN, Y. Pathogen biocontrol using plant growth-promoting bacteria (PGPR): role of bacterial diversity. **Microorganisms**, v. 9, p. 1-18, 2021.

WANI, A. K.; AKHTAR, N.; SHER, F.; NAVARRETE, A. A.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P. Microbial adaptation to different environmental conditions: molecular perspective of evolved genetic and cellular systems. **Archives of Microbiology**, v. 204, p. 1-16, 2021.

YADAV, M. R.; KUMAR, R.; PARIHAR, C. M.; YADAV, R. K.; JAT, S. L.; RAM, H.; MEENA, R. K.; SINGH, M.; VERMA, A. P. Strategies for improving nitrogen use efficiency: a review. **Agricultural Reviews**, v. 38, n. 1, p. 29-40, 2017.

YIN, W.; WANG, Y.; LIU, L.; HE, J. Biofilms: the microbial protective clothing in extreme environments. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, p. 3423-3439, 2019.

ZHANG, B.-X.; LI, P.-S.; WANG, Y.-Y.; WANG, J.-J.; LIU, X.-L.; WANG, X.-Y.; HU, X.-M. et al. Characterization and synthesis of indole-3-acetic acid in plant growth promoting *Enterobacter* sp. **RSC Advances**, v. 11, p. 31601-31607, 2021.

ZHOU, D.; LIN, Z.; LIU, L.; ZIMMERMANN, D. Assessing secondary soil salinization risk based on the PSR sustainability framework. **Journal of Environmental Management**, v. 128, p. 642-654, 2013.

ZULUAGA, M. Y. A.; MILANI, K. M. L.; GONÇALVES, L. S. A.; OLIVEIRA, A. L. M. Diversity and plant growth-promoting functions of diazotrophic/N-scavenging bacteria isolated from the soils and rhizospheres of two species of *Solanum*. **Plos One**, v. 15, n. 1, p. 1-25, 2020.