

GONÇALO RODRIGUES DE CARVALHO NETO

BACTÉRIAS ASSOCIADAS A CACTÁCEAS E SEU POTENCIAL NA
PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL



Monografia apresentada ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como pré-requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO
RIO DE JANEIRO
DEZEMBRO / 2024

**Trabalho realizado no Departamento de
Microbiologia Geral, do Instituto de
Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a
orientação do(a) Professor(a) Diogo de Azevedo
Jurelevicius e coorientação de Raphael da Silva
Pereira**

CIP - Catalogação na Publicação

C331b Carvalho, Gonçalo
BACTÉRIAS ASSOCIADAS A CACTÁCEAS E SEU POTENCIAL
NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL / Gonçalo
Carvalho. -- Rio de Janeiro, 2024.
65 f.

Orientador: Diogo Jurelevicius.
Coorientador: Raphael Pereira.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto
de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia, 2024.

1. PGPB. 2. Cactacea. 3. Biotecnologia
microbiana. 4. Microbiologia ambiental. 5.
Restinga. I. Jurelevicius, Diogo, orient. II.
Pereira, Raphael, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO

**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO NO RCS DE
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO, BACHARELADO EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA**

ALUNO(A): GONÇALO RODRIGUES DE CARVALHO NETO **DRE: 121063022**

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Lucy Seldin (Presidente)
Dr(a). Jackeline Rossetti Mateus
Dr(a). Douglas Alfradique Monteiro
Prof. Mateus Gomes de Godoy (Suplente)

Título da Monografia: "Bactérias associadas a Cactáceas e seu potencial na promoção do crescimento vegetal"

Local: Sala de Reunião da Microbiologia Geral, no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da UFRJ.

Data e hora de início: 09 de dezembro de 2024 às 10:00h

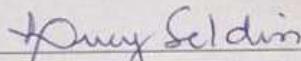
Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 8,0 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca examinadora, aluno, orientador (e/ou coorientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 9... de dezembro de 2024.

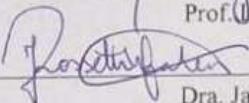
NOTA:

8,0

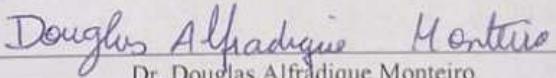
Banca Examinadora:

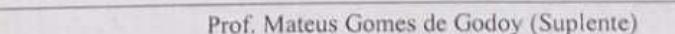

Prof. Lucy Seldin (Presidente)

8,0


Dra. Jackeline Rossetti Mateus

8,0

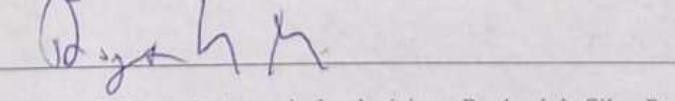

Dr. Douglas Alfradique Monteiro


Prof. Mateus Gomes de Godoy (Suplente)

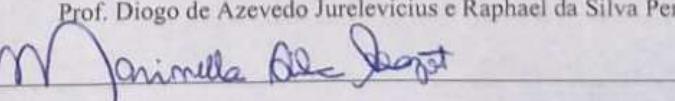
Aluno(a):


Gonçalo Rodrigues de Carvalho Neto

**Orientador(a)
(e coorientador):**


Prof. Diogo de Azevedo Jurelevicius e Raphael da Silva Pereira

**Coordenadora de
TCC:**


Profa. Marinella Silva Laport

Dedico este trabalho especialmente aos meus irmãos, Bruno, Gabriela, Gabriel, Ivaldo e Graziela, meus pais Nilma e Franciso e aos meus avós Vilma e Silas por me apoiarem durante essa jornada. À minha amiga Bianca Cordovil, por seu incentivo constante, mesmo nos momentos mais difíceis. As minhas queridas professoras e amigas Josiane e Rosineide, que sempre acreditaram no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

Às minhas professoras Josiane, Claudia, Rafaelle, Letícia e ao professor Lúcio, expresso minha mais profunda gratidão pelo constante incentivo, dedicação e inspiração ao longo de todo o meu ensino médio no IFAP. Um agradecimento especial à professora Larissa, cujo incentivo e aulas inesquecíveis de botânica despertaram em mim uma paixão pela biologia e o desejo de me tornar um verdadeiro "pai de planta". Por fim, minha amiga Bianca merece todo o meu reconhecimento por sempre acreditar em mim e por me encorajar a alcançar voos cada vez mais altos.

Aos meus queridos amigos “sudestinos” da UFRJ — Ana, Bianca e Eduardo —, e também aos “sudestinos” caxienses — Fernando, Nathalia, Jefferson e Paulo —, minha gratidão pelo apoio incondicional durante meu período de graduação, pelas conversas que aqueceram o coração e pelos momentos de carinho que tornaram tudo mais leve.

Ao meu querido amigo e orientador, Diogo Jurelevicius, deixo meu mais profundo agradecimento por ser o melhor orientador do mundo, permitindo-me trabalhar com algo que amo e conduzindo-me sempre com paciência e sabedoria.

Ao meu coorientador Raphael, sou imensamente grato por todo o conhecimento compartilhado e pelo suporte essencial durante a elaboração deste trabalho.

Ao meu companheiro Vinícius, que está sempre ao meu lado, acolhendo-me, incentivando-me e inspirando-me a dar o meu melhor em tudo. Amo você!

Aos amigos do LABEM e do LGM, que sempre se dispuseram a me ajudar com boa vontade — seja corrigindo textos, auxiliando em testes complexos, montando apresentações ou realizando análises nas quais eu tive dificuldades. Um agradecimento especial a Isabella, Igor, Millena e Vitória, por todo o suporte durante a iniciação científica.

Ao professor Caio, pela oportunidade de receber uma bolsa de iniciação científica durante os primeiros períodos de estágio, o que foi crucial para o meu desenvolvimento acadêmico.

As políticas de auxílio da UFRJ, que todos os anos permitem que diversos alunos se mantenham durante a graduação e concluam o curso, desempenham um papel fundamental na promoção de oportunidades minimamente iguais para todos.

Aos professores do curso de Microbiologia e Imunologia, deixo meu sincero agradecimento por todo o ensinamento transmitido e pela contribuição indispensável à minha formação profissional e pessoal.

Por fim, agradeço a todos os membros da banca por aceitarem o convite para avaliar este trabalho, ao CNPq, PIBIC e a COPPETEC pela bolsa de estudos que tornou esta iniciação científica possível.

“Tucuju: povo indígena do baixo rio Amazonas onde se localiza hoje cidades como Gurupá/PA, Vitória do Jari/AP e Macapá/AP, com origem na foz do Oiapoque (...) indígena pertencente a esse povo”

-Edna Oliveira

RESUMO

GONÇALO RODRIGUES DE CARVALHO NETO

BACTÉRIAS ASSOCIADAS A CACTÁCEAS E SEU POTENCIAL NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL

Orientador: Diogo de Azevedo Jurelevicius

Coorientador: Raphael da Silva Pereira

Na restinga, a vegetação está exposta a adversidades como baixa disponibilidade hídrica, escassez de nutrientes no solo, altas temperaturas e ventos constantes. A interação entre plantas e microrganismos desempenha um papel crucial na adaptação e sobrevivência de espécies vegetais em ambientes extremos. Este trabalho teve como objetivo estudar estirpes bacterianas associada a três espécies de cactáceas (*Pilosocereus arrabidae*, *Cereus fernambucensis* e *Melocactus violaceus*) presentes na restinga Parque Estadual da Costa do Sol, localizado no município de Arraial do Cabo (RJ). Nesse sentido, foram avaliadas as propriedades promotoras de crescimento vegetal (PGPB) de bactérias rizosféricas, endofíticas e de vida livre previamente isoladas das três espécies de cactos estudadas e do solo da restinga. Um total de 227 bactérias isoladas foram reativadas e foram feitos testes para avaliar propriedades PGPB, como a resistência ao déficit hídrico, produção de ácido indolacético (AIA), solubilização de fosfato, e resistência à salinidade e produção de exopolissacarídeo (EPS). Foi observado que a partir da cactácea *P. arrabidae* foram obtidos os maiores números de estirpes bacterianas resistentes ao déficit hídrico e a salinidade, com o total de 17 bactérias halotolerantes e 5 capazes de crescer em condições de estresse hídrico. Em *M. violaceus*, nenhuma bactéria foi resistente ao déficit hídrico e a salinidade, enquanto em *C. fernambucensis* 3 bactérias isoladas foram resistentes ao déficit hídrico e 11 à salinidade. Adicionalmente, todos os isolados foram testados quanto à capacidade de produzir EPS, o resultado mostrou que das 47 bactérias isoladas da rizosfera de *P. arrabidae*, 26 foram capazes de produzir EPS. De *M. violaceus* houveram 23 produtores e de *C. fernambucensis* 14 isolados produtores. Além destes, foram observadas um total de 41 bactérias produtoras de auxina, e 122 solubilizadoras de fosfato. Por fim, a identificação taxonômica das bactérias isoladas foi realizada através do sequenciamento do gene que codifica o rRNA 16S. O resultado mostrou a identificação de gêneros reconhecidos por possuírem características de PGPB, como *Bacillus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas* e *Streptomyces*. Ademais, foi observado a predominância de *Bacillus* e *Pseudomonas* em *P. arrabidae*, *Heyndrickxia* e *Burkholderia* em *C. fernambucensis* e *Streptomyces* e *Paenibacillus* em *M. violaceus*. De todas as bactérias identificadas, uma bactéria relacionada a *Bacillus wiedmannii* apresentou múltiplas propriedades PGPB, sendo esta espécie obtida da rizosfera de *C. fernambucensis*. Os resultados reforçam a importância de estudos sobre a microbiota associada a plantas de restinga, fornecendo dados para o desenvolvimento de aplicações biotecnológicas voltadas à agricultura sustentável e à conservação de ecossistemas.

Palavras-chave: Cactáceas, Microbiota, Restinga, PGPB, gene *rrs*, Biotecnologia

ABSTRACT

GONÇALO RODRIGUES DE CARVALHO NETO

BACTERIAL STRAINS ASSOCIATED WITH CACTI FROM THE BRAZILIAN RESTINGA: IDENTIFICATION AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL

Orientador: Diogo de Azevedo Jurelevicius

Coorientador: Raphael da Silva Pereira

In the restinga ecosystem, vegetation is exposed to adversities such as low water availability, nutrient scarcity in the soil, high temperatures, and constant winds. The interaction between plants and microorganisms plays a crucial role in the adaptation and survival of plant species in extreme environments. This study aimed to investigate bacterial strains associated with three cacti species (*Pilosocereus arrabidae*, *Cereus fernambucensis*, and *Melocactus violaceus*) found in the restinga of the Costa do Sol State Park, located in the municipality of Arraial do Cabo (RJ, Brazil). The plant growth-promoting properties (PGPB) of rhizospheric, endophytic, and free-living bacteria previously isolated from the three cactus species and the restinga soil were evaluated. A total of 227 bacterial isolates were reactivated and subjected to tests for PGPB properties, such as tolerance to water deficit, production of indole acetic acid (IAA), phosphate solubilization, salinity resistance, and exopolysaccharide (EPS) production. Among the cactus species, isolates from *P. arrabidae* exhibited the highest number of bacterial strains resistant to water deficit and salinity, totaling 17 halotolerant bacteria and 5 capable of growing under water stress conditions. For *M. violaceus*, no bacteria were resistant to water deficit or salinity, whereas for *C. fernambucensis*, 3 isolates showed resistance to water deficit and 11 to salinity. Additionally, all isolates were tested for EPS production. The results indicated that out of 47 bacteria isolated from the rhizosphere of *P. arrabidae*, 26 were capable of producing EPS. For *M. violaceus*, 23 EPS producers were identified, and for *C. fernambucensis*, 14 EPS-producing isolates were found. Furthermore, 41 isolates were identified as auxin producers, and 122 demonstrated phosphate solubilization capabilities. The taxonomic identification of the bacterial isolates was performed through sequencing of the 16S rRNA gene. The results revealed the presence of genera known for their PGPB characteristics, such as *Bacillus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, and *Streptomyces*. Moreover, *Bacillus* and *Pseudomonas* were predominant in *P. arrabidae*, *Heyndrickxia* and *Burkholderia* in *C. fernambucensis*, and *Streptomyces* and *Paenibacillus* in *M. violaceus*. Among all the isolates, a bacterium related to *Bacillus wiedmannii* exhibited multiple PGPB properties and was obtained from the rhizosphere of *C. fernambucensis*. These findings underscore the importance of studying the microbiota associated with restinga plants, providing insights for the development of biotechnological applications aimed at sustainable agriculture and ecosystem conservation.

Keywords: Cacti, Microbiota, Restinga, PGPB, 16S rRNA gene sequencing, Biotechnology.

RESUMO PARA LEIGOS

GONÇALO RODRIGUES DE CARVALHO NETO

BACTÉRIAS ASSOCIADAS A CACTÁCEAS E SEU POTENCIAL NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL

Orientador: Diogo de Azevedo Jurelevicius

Coorientador: Raphael da Silva Pereira

As plantas possuem uma relação essencial com microrganismos, como bactérias, que ajudam a protegê-las e a crescer, especialmente em ambientes onde as condições ambientais não são favoráveis, com pouca água e baixa disponibilidade de nutrientes. Este estudo investigou bactérias que vivem nas raízes e dentro de três espécies de cactos da restinga brasileira (*Pilosocereus arrabidae*, *Cereus fernambucensis* e *Melocactus violaceus*). Conseguimos obter 227 bactérias destas plantas, e 116 delas foram identificadas. Algumas dessas bactérias têm habilidades incríveis, como ajudar as plantas a absorverem nutrientes, crescerem mais saudáveis e se protegerem de doenças. Entre as bactérias encontradas, gêneros como *Bacillus*, *Burkholderia* e *Paenibacillus* se destacaram. Um dos destaques foi a bactéria *Bacillus wiedmannii*, que mostrou grande potencial para promover o crescimento das plantas. Este trabalho é importante porque nos ajuda a entender melhor essas interações naturais e pode levar a soluções biotecnológicas para uma agricultura mais sustentável e para proteger a natureza.

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AIA - Ácido indol acético

APA - Área de Proteção Ambiental

CAM - Metabolismo Ácido das Crassuláceas (do inglês, *Crassulacean Acid Metabolism*)

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

DNA - Ácido desoxirribonucleico (do inglês, *Deoxyribonucleic acid*)

EPS - Exopolissacarídeos

PCR - Reação em Cadeia da polimerase (do inglês, *Polymerase Chain Reaction*)

PGPB - Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (do inglês, *Plant Growth Promoting Bacteria*)

REP - Região entre Plantas

rRNA - Ácido ribonucleico ribossomal (do inglês, *Ribosomal RNA*)

RNA - Ácido ribonucleico

TSA - Ágar Triptona de Soja (do inglês, *Tryptic Soy Agar*)

TSB - Caldo Triptona de Soja (do inglês, *Tryptic Soy Broth*)

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Restinga	1
1.2 Restinga de Massambaba: ambiente e vegetação	1
1.3 Família Cactaceae	4
1.4 Bactérias promotoras de crescimento de plantas	5
1.5 Bactérias promotoras de crescimento de plantas que aumentam a tolerância ao estresse hídrico	7
1.6 Bactérias promotoras de crescimento de plantas relacionadas à produção de compostos indólicos	7
1.7 Bactérias promotoras de crescimento de plantas relacionadas à solubilização de fosfato	9
1.8 Identificação de bactérias por sequenciamento de Sanger a partir do gene <i>rrs</i>	10
3. OBJETIVOS	11
3.1 Objetivos gerais	11
3.2 Objetivos específicos	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1 Análise da atividade de PGPB previamente isoladas da rizosfera dos cactos <i>Pilosocereus arrabidae</i> , <i>Melocactus violaceus</i> e <i>Cereus fernambucensis</i>	12
4.2 Reativação dos isolados em Placas Deep Well com Meio TSA.....	13
4.2.1 Teste de resistência à salinidade	14
4.2.2 Seleção de estirpes tolerantes ao estresse hídrico.....	14
4.2.3 Produção de exopolissacarídeos (EPS).....	14
4.2.4 Solubilização de fosfato.....	15
4.2.5 Produção de compostos indólicos.....	15
4.3 Identificação dos isolados.....	15
5. RESULTADOS	16
5.1 Resistência à salinidade	17
5.2 Produção de EPS	18
5.3 Produção de AIA	19
5.4 Solubilização de fosfato.....	22
5.5 Resistência ao estresse hídrico	24
5.6 Identificação taxonômica dos isolados	25
6. DISCUSSÃO	43
7. CONCLUSÕES.....	49
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1. INTRODUÇÃO

1.1 Restinga

"Restinga" é um termo tanto geomorfológico quanto botânico. Ele se aplica igualmente às planícies arenosas que remontam ao Quaternário, principalmente ao Holoceno, e à vegetação que recobre essas planícies (Scarano *et al.*, 2005). Na área de Ecologia Vegetal, no estudo da vegetação costeira, o termo "restinga" é utilizado para definir as diferentes formas de vegetação estabelecidas sobre solos arenosos que ocorrem na região da planície costeira (Azevedo *et al.*, 2017). A resolução CONAMA nº 261, de 30 de junho de 1999, define a restinga como um conjunto de ecossistemas que abrange comunidades vegetais com características florísticas e fisionômicas distintas. As restingas estão localizadas em terrenos predominantemente arenosos, originados de processos marinhos, fluviais, lagunares, eólicos ou combinações desses, datando geralmente da era quaternária, e apresentam solos pouco desenvolvidos (Bohrer *et al.*, 2009). Elas são encontradas em praias, cordões arenosos, dunas, depressões associadas, planícies e terraços (Silva *et al.*, 2021). Devido à fragilidade dos ecossistemas de restinga, sua vegetação desempenha um papel crucial na estabilização dos sedimentos e na manutenção da drenagem natural. Além disso, a vegetação da restinga é fundamental para a preservação da fauna residente e migratória, que encontra neste ambiente alimentos e locais seguros para nidificar e se proteger dos predadores (Carvalho *et al.*, 2018).

Os diferentes tipos de vegetação ocorrentes nas restingas brasileiras variam desde formações herbáceas, passando por formações arbustivas, abertas ou fechadas, chegando a florestas cujo dossel varia em altura, geralmente não ultrapassando os 20 m. Segundo Araujo (2009), as condições adversas para o estabelecimento e crescimento de plantas (por exemplo, salinidade, ventos intensos, profundidade do lençol freático e fertilidade do solo) favorecem a seleção de espécies únicas para cada restinga.

1.2 Restinga de Massambaba: ambiente e vegetação

A Restinga de Massambaba, como descrita por Carvalho e colaboradores (2018), é constituída por uma faixa arenosa de 48 km de extensão que vai da Barra da Lagoa de Saquarema ao Morro do Atalaia, em Arraial do Cabo, uma região que compreende três municípios: Araruama, Arraial do Cabo e Saquarema. Parte da Restinga de Massambaba está dentro da Área de Proteção Ambiental (APA) de Massambaba, que possui uma extensão de

aproximadamente 76,3 km² (Araujo *et al.*, 2009), e engloba outros biomas e ecossistemas, como mangues, área de floresta atlântica, dentre outros tipos de vegetação (**Figura 1**).

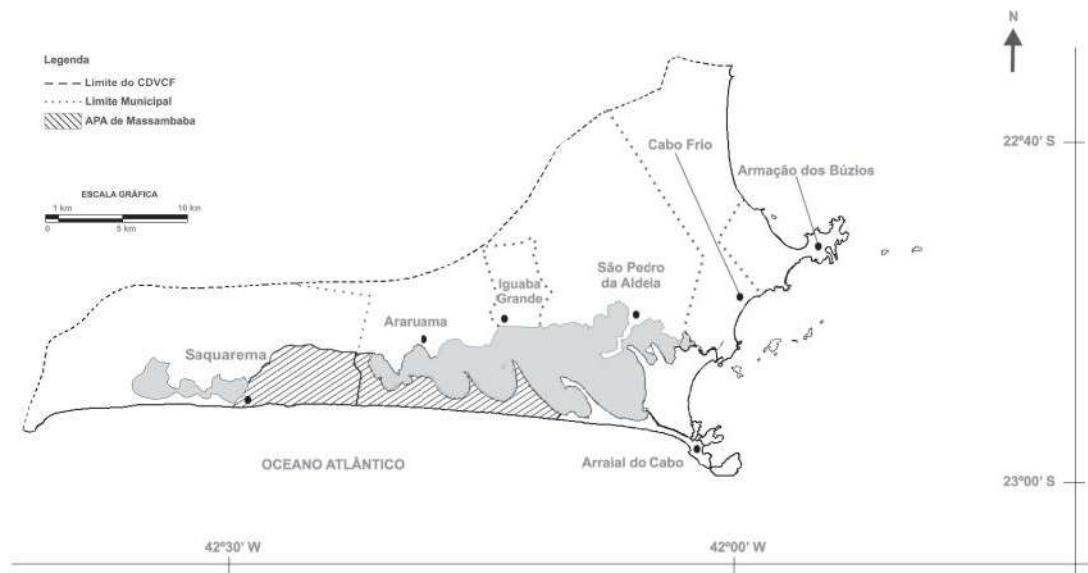


Figura 1 - Localização da Área de Proteção Ambiental de Massambaba, RJ. Fonte: Araújo *et al.*, 2009.

A APA de Massambaba corresponde a um extenso sistema de duplos cordões arenosos que separam sistemas lacunares da área marítima. Sua criação foi oficializada em 15 de dezembro de 1986, por meio do Decreto nº. 9529-C (Freitas, 1990; Araujo *et al.*, 2009) com o propósito primordial de conservar a fauna e flora extraordinariamente singulares deste ambiente. A Restinga de Massambaba é reconhecida por apresentar alta diversidade e endemismo de espécies vegetais e animais, possuindo a maior riqueza de espécies dentre as restingas do Rio de Janeiro. Cerca de 57% das espécies totais observadas nas restingas do Rio de Janeiro são encontradas na Restinga de Massambaba, em uma área que corresponde a 12% da área total de restingas do estado (Carvalho *et al.*, 2018).

Reconhecida por apresentar uma diversidade abundante de fauna e flora, a restinga apresenta condições ambientais únicas com diversas adversidades abióticas (temperatura alta, salinidade, seca, ventos fortes e escassez de nutrientes). Plantas denominadas halófitas, capazes de se desenvolver em solos salinos e relativamente pobres, são encontradas com prodigalidade na restinga. Essas plantas apresentam alterações morfológicas, tais como acúmulo de solutos na célula, aumento da suculência e diminuição da condutância estomática, como adaptações para sobreviver nestes ambientes (Arruda *et al.*, 2009; Carvalho e Sá, 2011).

Na restinga de Massambaba, a vegetação apresenta adaptações às mudanças de umidade, salinidade, relevo e variações eólicas típicas de restinga, originando, assim, diferentes tipos de vegetação (**Figura 2**). Por exemplo, podem ser encontradas (i) vegetação arbórea de grande porte e contínua, adaptada a terrenos arenosos e secos, que ocasionalmente são inundados sazonalmente; (ii) vegetação arbustiva organizada em moitas de pequeno, médio ou grande porte, frequentemente encontrada em dunas; (iii) vegetação halófila e psamófila reptante, localizada próxima às faixas das marés, com cobertura que varia de rala a densa e contínua. Geralmente, a abundância de espécies vegetais aumenta à medida que se afasta do mar (**Figura 2**) (Pereira *et al.*, 2001; Bohrer *et al.*, 2009).



Figura 2 - Esquema das formações vegetais encontradas na restinga (herbácea, arbustiva e arbórea) e influência de fatores abióticos como salinidade, solo arenoso, baixa disponibilidade de nutrientes e alta incidência solar. (Ilustração elaborada na plataforma Adobe Illustrator).

Em todos os casos, devido às características de ambientes áridos e semiáridos que são observadas nas restingas, uma das famílias botânicas com maior presença é a das cactáceas

(Cactaceae). Essa família de plantas é endêmica do continente americano, onde podem ser encontradas em diferentes ambientes desde o nível do mar até altitudes superiores a 5000 metros e desde o Canadá até a Argentina (Pereira, 2001).

1.3 Família Cactaceae

A família Cactaceae é um grupo botânico de plantas xerófitas e oligotróficas, majoritariamente distribuído nas Américas, representado por mais de 130 gêneros e 2.000 espécies (Simões, 2020). No Brasil, a família Cactaceae é representada por aproximadamente 270 espécies (193 endêmicas) e 39 gêneros (14 endêmicos) (Nepomuceno *et al.*, 2022). As cactáceas possuem ampla variedade de formas e tamanhos, desde arbóreos, arbustivos, globulares, colunares, rastejantes, altos ou anões. São plantas perenes; geralmente são dotadas de caule suculento (ramo), externamente esverdeado e com função fotossintetizante, muitas vezes articulado, compresso, cilíndrico, costado ou tuberculado (Zappi *et al.*, 2017). Para sobreviver em ambientes áridos, os cactos evoluíram diversas características singulares, como o metabolismo fotossintético do tipo CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas, utilizado para adaptar-se a condições de alta temperatura e baixa disponibilidade de água). Além disso, plantas da família Cactaceae podem apresentar uma cutícula espessa e cerosa que minimiza a perda de água, a redução no tamanho e na duração das folhas, e a transformação dessas folhas em espinhos agrupados em areolas (Mauseth, 2006). Desta maneira, as cactáceas conseguiram prosperar em diversos ambientes, incluindo aqueles onde as condições de crescimento vegetal são limitadas por fatores como a baixa disponibilidade de água, alta temperatura e baixa quantidade de matéria orgânica no solo.

Diferentes espécies de cactáceas são encontradas na Restinga de Massambaba. Dentre essas, podemos citar as espécies (i) *Pilosocereus arrabidae* (**Figura 3 - A**), (ii) *Melocactus violaceus* (**Figura 3 - B**), e (iii) *Cereus fernambucensis* (**Figura 3 - C**). Embora a própria fisiologia das cactáceas auxilie na disseminação em ambientes áridos e semiáridos, como já descrito anteriormente, é postulado que o desenvolvimento e sobrevivência destas plantas em ambientes inóspitos pode ser favorecido pela associação vegetal com comunidades microbianas. Plantas e microrganismos têm a capacidade de estabelecer uma relação mutualística, na qual as plantas desenvolvem estratégias para selecionar comunidades microbianas que podem favorecer o seu desenvolvimento. A interação dos microrganismos com suas plantas hospedeiras resulta no que é conhecido como fitomicrobioma (Kavamura, 2013;

Beraldo, 2021). De fato, diferentes espécies vegetais são nicho de diversos microrganismos que podem ter potencial biotecnológico. Diferentes microrganismos podem colonizar o interior da planta (endofíticos) ou as superfícies de raízes (rizosféricos) (Kavamura, 2013; Beraldo., 2021).

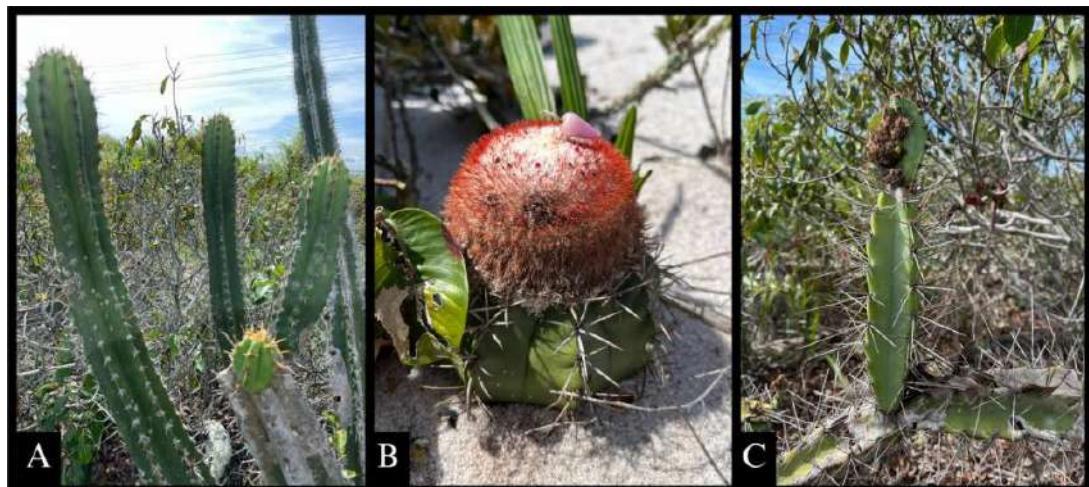


Figura 3 - Espécies de cactos mais abundantes na Restinga de Massambaba: (A) *Pilosocereus arrabidae*, (B) *Melocactus violaceus*, (C) *Cereus fernambucensis*, localizadas no Parque Estadual da Costa do Sol (APA de Massambaba), Arraial do Cabo - RJ. Fonte: arquivo pessoal.

1.4 Bactérias promotoras de crescimento de plantas

As Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (PGPB, do inglês, *Plant Growth-Promoting Bacteria*) desempenham um papel essencial na melhoria das características físicas, químicas e biológicas dos solos (**Figura 4**). É postulado que as PGPB facilitam a absorção de nutrientes e o fluxo de água, especialmente sob condições de estresse abiótico, que são grandes obstáculos ao desenvolvimento vegetal e produção agrícola (Künstler *et al.*, 2023). As PGPB apresentam uma diversidade de mecanismos pelos quais podem estimular o desenvolvimento vegetal (Zhao *et al.*, 2023). Existem mecanismos que promovem o desenvolvimento vegetal diretamente, como a fixação biológica de nitrogênio, solubilização do fosfato e produção de fitormônios, ou de forma indireta, como a produção de sideróforos e exopolissacarídeos (Figura 4) (Rezende *et al.*, 2021). Adicionalmente, PGPB podem auxiliar plantas a crescer em ambientes salinos. O microbioma bacteriano associado às raízes das plantas halófitas é um recurso útil para o isolamento de microrganismos tolerantes ao sal com múltiplas outras características promotoras de crescimento vegetal, como a produção de diferentes fitormônios, a dissolução de fosfatos inorgânicos insolúveis, a produção de sideróforos, a fixação molecular

de nitrogênio, a atividade da enzima desaminase do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) e a supressão de patógenos (Glick e Etesami, 2020).

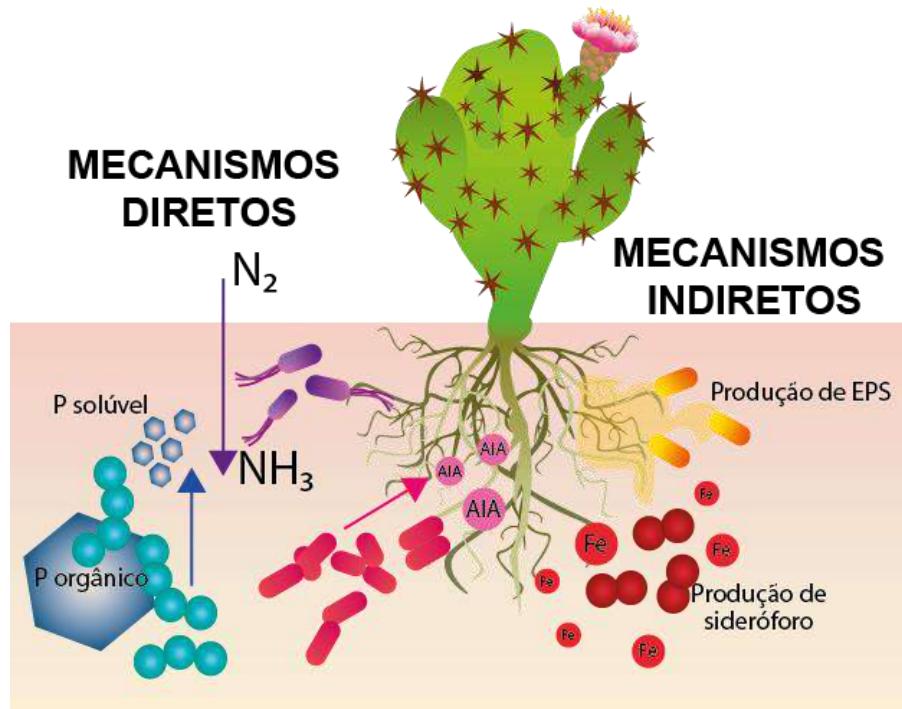


Figura 4 - Diagrama das vias de promoção de crescimento vegetal por bactérias em uma espécie de Cactaceae: via direta (fixação de nitrogênio, solubilização de P e produção de AIA) e via indireta (produção de EPS e produção de sideróforo). (Ilustração elaborada na plataforma Adobe Illustrator).

Ademais, algumas características das PGPB, como mecanismos de tolerância ao estresse hídrico e salinidade, produção de compostos indólicos e solubilização de fosfato, são especialmente importantes para o desenvolvimento de plantas em ambientes de restinga (Manlay *et al.*, 2000). Isso por que esses ambientes possuem solos arenosos, baixos teores de matéria orgânica e limitada capacidade de suporte ao desenvolvimento das plantas (Silva *et al.*, 2013). Dessa maneira, as PGPB desempenham um papel crucial na fertilidade dos solos de restinga e no desenvolvimento vegetal (Manlay *et al.*, 2000). As PGPB, que possuem representantes em diversos gêneros bacterianos, podem ser de vida livre (não associadas a plantas), rizosféricas (colonizam a superfície das raízes ou ao redor das raízes das plantas) ou endofíticas (colonizam o interior de tecidos vegetais). Todas podem promover de alguma forma o crescimento e estabelecimento de plantas, e muitas PGPB podem ser recrutadas para

colonização da rizosfera ou mesmo do tecido vegetal das plantas através da exsudação de metabólitos secundários pelas raízes (Bashan e Holguin, 2002; Glick, 2012).

1.5 Bactérias promotoras de crescimento de plantas que aumentam a tolerância ao estresse hídrico

Bactérias que podem aumentar a tolerância de plantas ao estresse hídrico apresentam mecanismos como (i) a produção de exopolissacarídeos extracelulares, que formam uma camada protetora em torno das raízes facilitando a retenção de água (Paulo *et al.*, 2012), e (ii) a emissão de compostos orgânicos voláteis, que induzem resistência a doenças e tolerância ao estresse abiótico (Kavamura *et al.*, 2013).

Adicionalmente no que diz respeito ao estresse hídrico nas plantas, as PGPB podem aumentar a concentração de solutos compatíveis, tais como açúcares solúveis, polióis, glicina, betaína, prolina e aminoácidos livres (Wahab *et al.*, 2022). O aumento de solutos compatíveis contribui para melhorar a atividade da água nas células vegetais e mantém as funções metabólicas normais mesmo sob condições de estresse salino (Wahab *et al.*, 2022). Além disso, essas PGPB também podem estimular a produção de antioxidantes, como a catalase, ascorbato peroxidase e glutationa peroxidase, auxiliando na redução das espécies reativas de oxigênio e minimizando o estresse oxidativo nas plantas sob condições adversas (Peng *et al.*, 2023).

1.6 Bactérias promotoras de crescimento de plantas relacionadas à produção de compostos indólicos

Os fitormônios, que são compostos essenciais para a regulação de processos fisiológicos nas plantas, podem ser agrupados em cinco categorias principais: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico (Tsavkelova *et al.*, 2006). Essas substâncias desempenham papéis fundamentais no crescimento vegetal, influenciando desde a proliferação de brotos até a formação e desenvolvimento do sistema radicular. Além disso, os fitormônios são responsáveis por mediar respostas complexas a estímulos ambientais, como luz, gravidade e condições de florescimento, facilitando a adaptação das plantas em ambientes onde a proliferação de espécies vegetais encontra barreiras abióticas (Tsavkelova *et al.*, 2006; Spaepen e Vanderleyden, 2011; Glick, 2012). Segundo Pankiewicz *et al.* (2021), diferentes PGPB são capazes de induzir a produção de fitormônios em plantas, sendo um fator determinante para seleção de bioestimulantes (Santoyo *et al.*, 2019). As auxinas são substâncias químicas pertencentes à classe dos ácidos indólicos. Elas se diferenciam pela presença de uma cadeia lateral cuja

estrutura pode variar (**Figura 5**), o que influencia suas propriedades e funções (Cassel *et al.*, 2021).

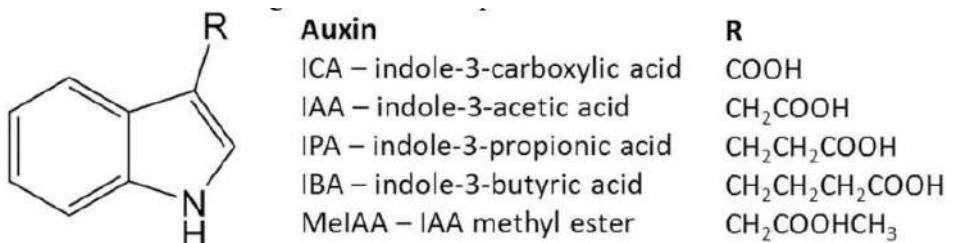


Figura 5 - Fórmula molecular do ácido indólico e seus grupos variáveis que diferenciam os distintos hormônios vegetais. (Cassel *et al.*, 2021).

Estudos sobre a aplicação de cepas, como AbV5 de *Azospirillum brasiliense* em *Panicum maximum* (Silva *et al.*, 2019) os autores mostram o aumento tanto na largura quanto no comprimento das folhas, em comparação com o grupo de controle não inoculado. Essa cepa de *A. brasiliense* possui a capacidade de produzir compostos indólicos, que são precursores da auxina, um hormônio vegetal conhecido por estimular o crescimento da área foliar (Rolón-Cárdenas *et al.*, 2022). O ácido indolacético (AIA) é a auxina mais ativa, afetando a fisiologia das plantas de maneiras distintas, dependendo de sua concentração e da espécie vegetal envolvida. A auxina natural mais importante presente na maioria das plantas é o ácido indol-3-il-acético (Pescador *et al.*, 2008). Embora as plantas possuam outras auxinas, a maioria delas também é derivada do indol, estruturalmente semelhante ao AIA. Em todos os casos, esses compostos indólicos podem ser precursores ou produtos da transformação do AIA (Tsavkelova *et al.*, 2006).

A síntese microbiana de AIA pode ocorrer por diferentes vias metabólicas, sendo a via do ácido indol-3-pirúvico a principal rota para a produção deste fitormônio (Ahmed e Kibret, 2014). Como esperado, o AIA sintetizado por PGPB pode influenciar significativamente o desenvolvimento vegetal. A presença de AIA microbiano não apenas promove a divisão e elongação celular, mas também facilita a formação de raízes laterais e adventícias, melhora a absorção de nutrientes e aumenta a resistência das plantas a estresses ambientais. Assim, a síntese de AIA por microrganismos é um exemplo notável de como a interação planta-microrganismo pode ser benéfica, contribuindo para a saúde e o crescimento das plantas em ecossistemas variados.

1.7 Bactérias promotoras de crescimento de plantas relacionadas à solubilização de fosfato

O fósforo (P) é um dos minerais mais importantes para o crescimento das plantas, ocupando uma posição de destaque entre os macronutrientes do solo (Gurmani *et al.*, 2019). Este nutriente é vital para vários processos metabólicos, incluindo a fotossíntese. Além disso, o fósforo é essencial na respiração celular, facilitando a liberação de energia necessária para o crescimento e desenvolvimento das plantas. O fósforo é necessário para a atividade enzimática, servindo como um componente essencial de moléculas como ATP, NADPH e fosfolipídios, que são indispensáveis para a transferência de energia e sinalização celular (Wu *et al.*, 2005). Sem a presença adequada de fósforo, as plantas podem apresentar crescimento reduzido, folhas escuras e raízes fracas, o que compromete a produtividade e a saúde geral da planta.

Em solos tropicais, a disponibilidade do fósforo é frequentemente limitada. Como o fósforo representa um nutriente essencial para o crescimento vegetal, os agricultores muitas vezes recorrem ao uso de doses elevadas de adubos fosfatados para aumentar a produtividade agrícola (Cacciari *et al.*, 1989). Contudo, o uso excessivo de fertilizantes fosfatados pode levar à eutrofização de corpos d'água e outros impactos ambientais negativos. Com a aplicação de fertilizantes fosfatados, ocorre o acúmulo de fósforo (P) em formas tanto orgânicas, quanto inorgânicas, variando em seus graus de energia de ligação. Contudo, o acúmulo é mais significativo nas formas inorgânicas, que predominam após a aplicação desses fertilizantes químicos (Gatiboni *et al.*, 2007). A porção inorgânica de P solúvel costuma ser rapidamente imobilizada e não pode ser absorvida pelas plantas (Glick, 2012). Nesse contexto, PGPB, como as bactérias solubilizadoras de fosfato, desempenham papéis cruciais na disponibilização de fósforo para as plantas (Zaidi *et al.*, 2009). A solubilização do fósforo inorgânico geralmente ocorre devido à ação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como o ácido glucônico e o ácido cítrico, que são sintetizados por várias bactérias do solo (Zaidi *et al.*, 2009). Adicionalmente, algumas PGPB podem produzir fosfatases, que são enzimas capazes de hidrolisar ésteres fosfatos e anidridos de ácido fosfórico, convertendo o fosfato orgânico em fosfato inorgânico disponível e assimilável para as plantas (Richardson *et al.*, 2001).

1.8 Identificação de bactérias por sequenciamento de Sanger a partir do gene *rrs*

A identificação de bactérias com base no sequenciamento do gene *rrs*, que codifica o 16S rRNA, é uma ferramenta amplamente utilizada na microbiologia, especialmente para estudos filogenéticos e taxonômicos. Esse gene, que atua como um marcador molecular de

bactérias e arqueias, permite uma análise detalhada da diversidade microbiana, contribuindo para a compreensão da distribuição e composição das comunidades bacterianas em diferentes ambientes (Torsvik e Øvreas, 2002; O'Donnell *et al.*, 2007; Paul, 2007). Essas técnicas têm sido fundamentais para expandir nosso entendimento sobre a diversidade filogenética de microrganismos em solos e outros ambientes, trazendo novos insights sobre suas funções ecológicas e interações com o meio (Boetius, 2021).

Além disso, o sequenciamento do gene *rrs* é especialmente útil para descrever comunidades microbianas de ecossistemas pouco estudados, como solos arenosos e pobres em nutrientes, típicos de ambientes extremos. A utilização dessa abordagem, aliada a análises de bioinformática, possibilita a detecção de bactérias com potencial biotecnológico, destacando sua importância para a exploração de novos microrganismos e suas aplicações práticas (Clipson *et al.*, 2006).

2. JUSTIFICATIVA

Embora o padrão de distribuição das plantas na restinga tenha chamado a atenção desde o início do século XX, pouco se sabe sobre o microbioma de cactáceas e do papel das comunidades microbianas do solo no desenvolvimento dessas espécies vegetais em solos de restinga. A compreensão detalhada dessas interações é crucial, pois os microrganismos desempenham papéis fundamentais nos ciclos de nutrientes e na saúde do solo, influenciando diretamente a produtividade e a sustentabilidade dos ecossistemas tropicais. Nesse sentido, a determinação das comunidades microbianas e o isolamento de bactérias promotoras de crescimento vegetal associado a cactáceas da restinga pode representar uma importante estratégia para a manutenção e conservação da biodiversidade das restingas. Sendo assim, esse projeto pode fornecer informações úteis para o desenvolvimento de bioinoculantes com o intuito de promover o crescimento vegetal em regiões áridas e semiáridas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Caracterizar estirpes bacterianas previamente isoladas das *Cereus fernambucensis Lem.*, *Melocactus violaceus Pfeiff.* e *Pilosocereus arrabidae (Lem.)*, encontradas na Restinga de

Massambaba, avaliando o potencial de promoção do crescimento vegetal desses microrganismos.

3.2 Objetivos específicos

1. Identificar bactérias isoladas de exemplares dos cactos *Pilosocereus arrabidae*, *Melocactus violaceus* e *Cereus fernambucensis* presentes na restinga de Massambaba;
2. Avaliar a capacidade de bactérias isoladas dos cactos em produzir hormônios vegetais e/ou seus precursores;
3. Avaliar a capacidade de bactérias isoladas dos cactos em solubilizar fosfato inorgânico;
4. Avaliar a capacidade de bactérias isoladas dos cactos em aumentar a resistência vegetal ao estresse hídrico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

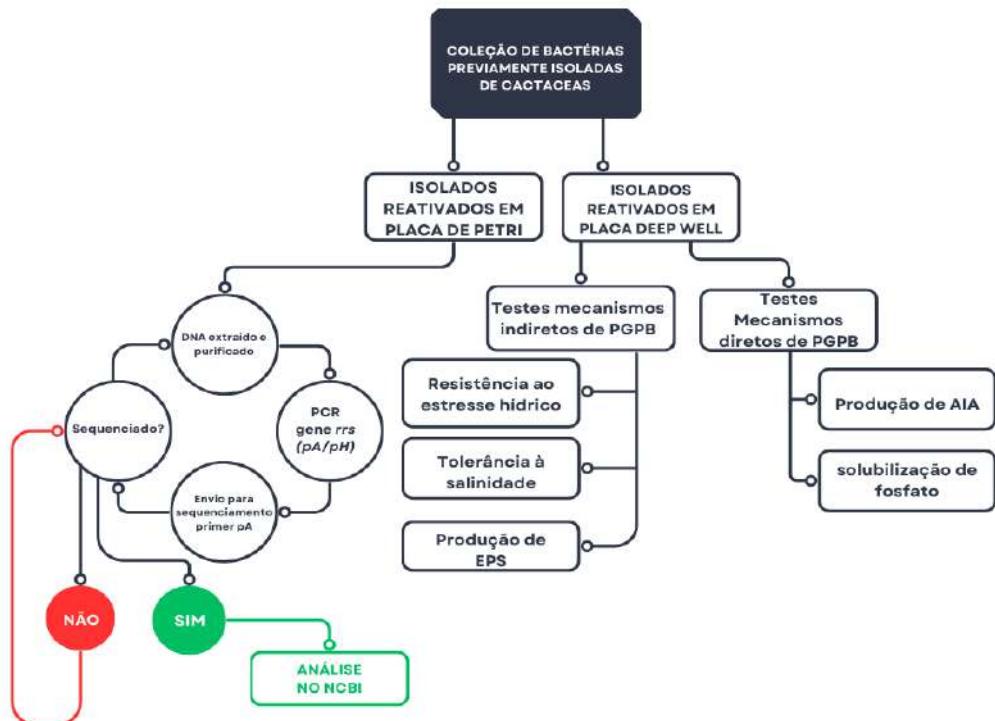


Figura 6 - Fluxograma de etapas realizadas durante a elaboração do presente trabalho (Figura gerada na plataforma Canva).

4.1 Análise da atividade de PGPB previamente isoladas da rizosfera dos cactos *Pilosocereus arrabidae*, *Melocactus violaceus* e *Cereus fernambucensis*.

Para análise da atividade PGPB, foram utilizadas bactérias previamente isoladas dos cactos *Pilosocereus arrabidae*, *Melocactus violaceus* e *Cereus fernambucensis* e também bactérias do solo entre plantas (Fidelis, 2023). Um total de 227 isolados bacterianos foram analisados, sendo que 47 bactérias foram isoladas da rizosfera de *Pilosocereus arrabidae*, 30 foram isoladas da rizosfera de *Melocactus violaceus* e 30 foram isoladas da rizosfera de *Cereus fernambucensis* (Fidelis, 2023). Adicionalmente, 30 bactérias isoladas do tecido (endofíticas) de *Pilosocereus arrabidae*, 29 endofíticos de *Melocactus violaceus* e 30 endofíticos de *Cereus fernambucensis* (Fidelis, 2023) também foram avaliados 31 isolados de amostras de solo (**Figura 7**). As atividades de PGPB foram avaliadas conforme descrito nos tópicos a seguir.

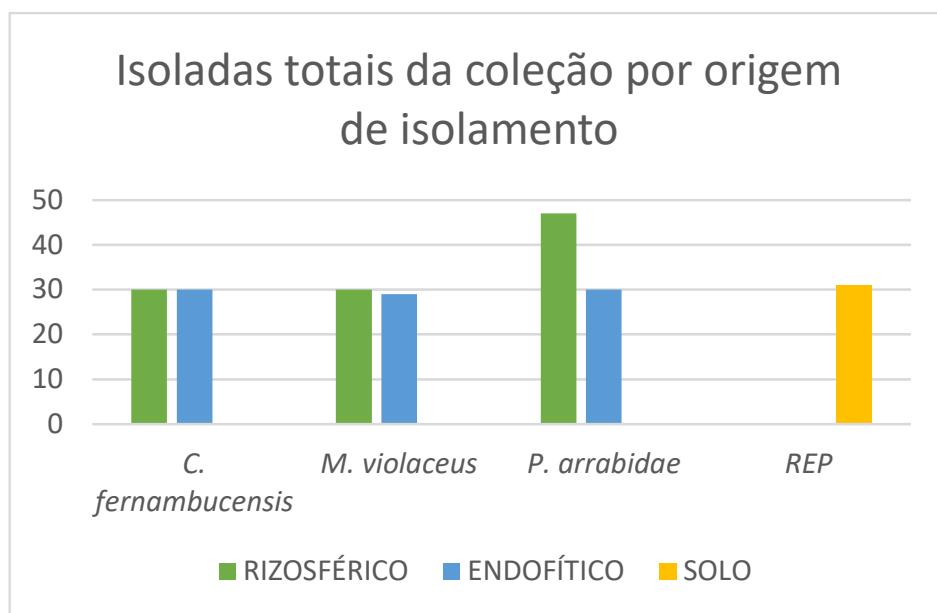


Figura 7 - Gráfico de barras ilustrando a quantidade de isolados obtidos de cada planta, rizosféricos e endotípicos. REP representa as amostras da região entre plantas, constituídas apenas por solo (Gráfico de barras gerado a partir da plataforma excel).

4.2 Reativação dos isolados em Placas Deep Well com meio TSB

Para a reativação de 227 amostras bacterianas, cada estirpe foi transferida de seu respectivo estoque para um poço de uma placa *deep well*, previamente autoclavadas, contendo

1 mL de meio TSA (Tryptic Soy Agar), sob condições assépticas em capela de fluxo laminar. O meio TSA foi preparado de acordo com as especificações do fabricante e utilizado para preencher os poços das placas previamente autoclavadas. Em seguida, uma alíquota de 20 µL da suspensão bacteriana contida nos criotubos foi inoculada em cada poço contendo o meio. As placas foram seladas com tampas ventiladas e incubadas a 28–30°C por 48 horas, sendo o crescimento avaliado por meio da turvação do meio. Após a reativação, as placas foram armazenadas a 4°C para uso posterior, garantindo a viabilidade e recuperação das cepas em condições padronizadas. Como controle de qualidade, 24 poços vazios em cada placa foram utilizados para monitorar contaminações; qualquer crescimento nesses poços indicava que a placa não era adequada para uso.

4.2.1 Teste de resistência à salinidade

Para realizar esse teste, cada estirpe bacteriana foi inicialmente inoculada em meio TSB contendo NaCl com uma concentração de 131 g/L. Isso foi feito para simular as condições de salinidade encontradas no habitat de restinga. Em seguida, as cepas foram incubadas a uma temperatura de 40°C, já que em regiões áridas e semiáridas como a restinga é comum que os solos alcancem essa temperatura, com agitação constante a 180 rpm, por um período de 48 horas (Saito e Posas, 2012; Chandler-Brown *et al.*, 2015). Os isolados que apresentaram crescimento no meio de cultura foram determinados como positivos para resistentes à salinidade.

4.2.2 Seleção de estirpes tolerantes ao estresse hídrico

As bactérias foram reativadas em meio de cultura TSB e em seguida inoculadas em placas do tipo *deep well* de 96 poços contendo meio de cultura TSB enriquecido com sorbitol na concentração de 405 g/l, com atividade de água (aw) equivalente a 0,919, e incubadas a 40°C por 48 horas e reinoculadas para outra placa contendo o mesmo meio e incubadas novamente a 40°C por 48h. Os isolados capazes de crescer em meio contendo sorbitol na segunda placa foram considerados como positivos para tolerância ao estresse hídrico (Kavamura *et al.*, 2013).

4.2.3 Produção de exopolissacarídeos (EPS)

A produção de exopolissacarídeos (EPS) foi realizada de forma qualitativa seguindo a metodologia de Kavamura *et al.*, (2013). Cada isolado bacteriano foi inoculado em disco de papel de 5 mm de diâmetro dispostos em meio (2% extrato de levedura; 1,5% K₂HPO₄; 0,02%

MgSO₄; 0,0015% MnSO₄; 0,0015% FeSO₄; 0,003% CaCl₂; 0,0015% NaCl; 1,5% ágar) adicionado de 10% de sacarose, pH de 7,5. A produção de EPS foi confirmada adicionando o muco formado na placa, quando presente, em 2ml de etanol absoluto gelado. A formação de um precipitado indicava a presença de exopolissacarídeos (Paulo *et al.*, 2012).

4.2.4 Solubilização de fosfato

Placas de 96 poços, do tipo *deep well* foram preenchidas com aproximadamente 800µL de meio de cultura Nbrrip modificado (fosfato 0,2g/L) (Nautiyal, 1999) por poço e autoclavadas. Foram inoculadas 15µL de cada bactéria, previamente cultivada em meio TSB, em três poços (triplicata) e mantida a 30°C por 96 h com agitação de 180 rpm. Após incubação, as placas foram centrifugadas a 4000 rpm por 25 min. Vinte e quatro microlitros do sobrenadante de cada poço foram transferidos para uma placa de leitura (96 poços de fundo chato) e adicionadas de 96µL de água mili-Q e 120µl da solução reveladora (Murphy e Riley, 1962). A leitura dos resultados foi feita no espectrofotômetro de placas utilizando comprimento de onda de 882 nm. A determinação da quantidade de fosfato solubilizado foi definida a partir da comparação dos sobrenadantes com uma curva padrão contendo fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) nas concentrações de 1, 4, 6 e 8 mg de P por litro.

4.2.5 Produção de compostos indólicos

Foram inoculadas 15 µL de cada bactéria, previamente cultivada em meio TSB, em placas do tipo *deep well* de 96 poços, já preenchidas com aproximadamente 800µL de meio King's B (King, Ward e Raney, 1954), suplementado com triptofano (1g/L) por poço, e autoclavadas. As placas foram mantidas a 30°C por 72h com agitação de 180 rpm. Em seguida foram centrifugadas a 4000 rpm por 25 min. Dez microlitros do sobrenadante foram transferidos para a placa de 96 poços de fundo chato e diluídos na proporção 1:4 com água destilada e 100µl da solução reveladora Salkowski. As placas foram centrifugadas a 4000 rpm por 10min, 140 microlitros do sobrenadante foram transferidos para uma placa de leitura (96 poços de fundo chato). A leitura dos resultados foi feita no espectrofotômetro de placas utilizando comprimento de onda de 530nm. A determinação da concentração de compostos indólicos foi definida a partir da comparação dos sobrenadantes com uma curva padrão contendo ácido indol acético nas concentrações de 0, 5, 15, 20 e 25 µg/mL.

4.3 Identificação dos isolados

Para a identificação molecular dos isolados bacterianos, foi realizada a amplificação do gene que codifica o rRNA 16S através de PCR diretamente da colônia bacteriana. Para isso, as alíquotas das células bacterianas ressuspensas em solução salina a 0,85% foram utilizadas com template para a amplificação por PCR utilizando os iniciadores universais pA e pH (Weisburg *et al.*, 1991), específicos para o gene *rrs*. O produto da reação de PCR foi purificado utilizando o kit de purificação de produto de PCR e gel da Promega, Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System A9280, seguindo as instruções do fabricante. Em seguida, a quantificação do DNA purificado foi realizada no fluorômetro Qubit, garantindo a precisão na determinação da concentração de DNA. Para o sequenciamento, foi preparada uma reação contendo 0,5 µL de água estéril, 0,5 µL do iniciador pA e 6 µL do produto purificado de PCR. Essa reação foi enviada para sequenciamento na plataforma de biologia estrutural do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho-UFRJ. O sequenciamento foi realizado utilizando a tecnologia de Sanger, que determinou as sequências específicas do gene *rrs*. A identificação das bactérias foi realizada a partir das sequências obtidas, comparando-as com sequências disponíveis no banco de dados do NCBI (National Center for Biotechnology Information) por meio da ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) conforme descrito por Altschul *et al.* (1990). O cutoff de identidade utilizado foi de 90%, que se mostrou adequado para a identificação das bactérias até o nível de gênero. Esse valor foi escolhido porque uma identidade de 90% é frequentemente suficiente para distinguir diferentes gêneros de bactérias, especialmente quando se utiliza um marcador genético como o gene *rrs*. As bactérias mais confiavelmente identificadas, com identidades entre 97% e 99%, foram classificadas como espécies.

5. RESULTADOS

De um total de 227 isolados, 216 isolados apresentaram viabilidade quando reativados, sendo estes submetidos a todos os testes de PGPB descritos na metodologia. Desses, 102 isolados foram provenientes da rizosfera, distribuídos da seguinte forma: 27 de *Cereus fernambucensis*, 29 de *Melocactus violaceus*, 46 de *Pilosocereus arrabidae* e 24 do solo entre as plantas. Em relação aos isolados endofíticos, foram obtidos 30 de *Cereus fernambucensis*, 30 de *Melocactus violaceus* e 30 de *Pilosocereus arrabidae*. Todas as estirpes foram submetidas a testes fenotípicos, cujo objetivo era identificar mecanismos diretos ou indiretos dos isolados para promover o crescimento vegetal. A **Figura 8** mostra o percentual de bactérias PGPB obtidas. Do total de 216 bactérias reativadas, 159 foram consideradas PGPB por apresentarem

resultados positivos em pelo menos um dos testes realizados. Bactérias que apresentaram apenas tolerância à salinidade ou não apresentaram positivo em nenhum teste foram desconsideradas como PGPB, para os fins deste trabalho.

Percentual de PGPB

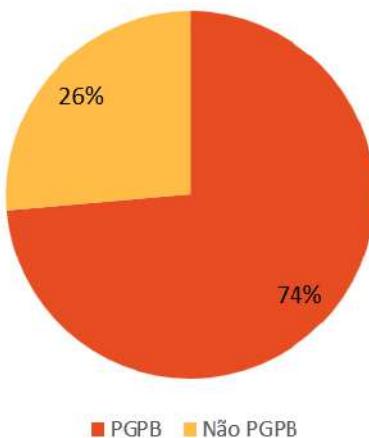


Figura 8 - Percentual de bactérias consideradas PGPB e o percentual de bactérias que não foram positivas em nenhum teste de PGPB.

5.1 Resistência à salinidade

Um total de 216 estirpes rizosféricas, endofíticas e do solo entre plantas foram submetidas a testes de resistência à salinidade (**Figura 9**). Os isolados de *Pilosocereus arrabidae* apresentaram o maior número de estirpes bacterianas resistentes à salinidade (15 isolados). Em *Melocactus violaceus*, 10 isolados demonstraram resistência à salinidade, enquanto de *Cereus fernambucensis* foram identificados 9 isolados com essa característica. Os testes evidenciaram que a tolerância à salinidade foi predominantemente encontrada em estirpes bacterianas rizosféricas, já que apenas 4 isolados endofíticos foram positivos: 2 de *Cereus fernambucensis* e 2 de *Pilosocereus arrabidae*.

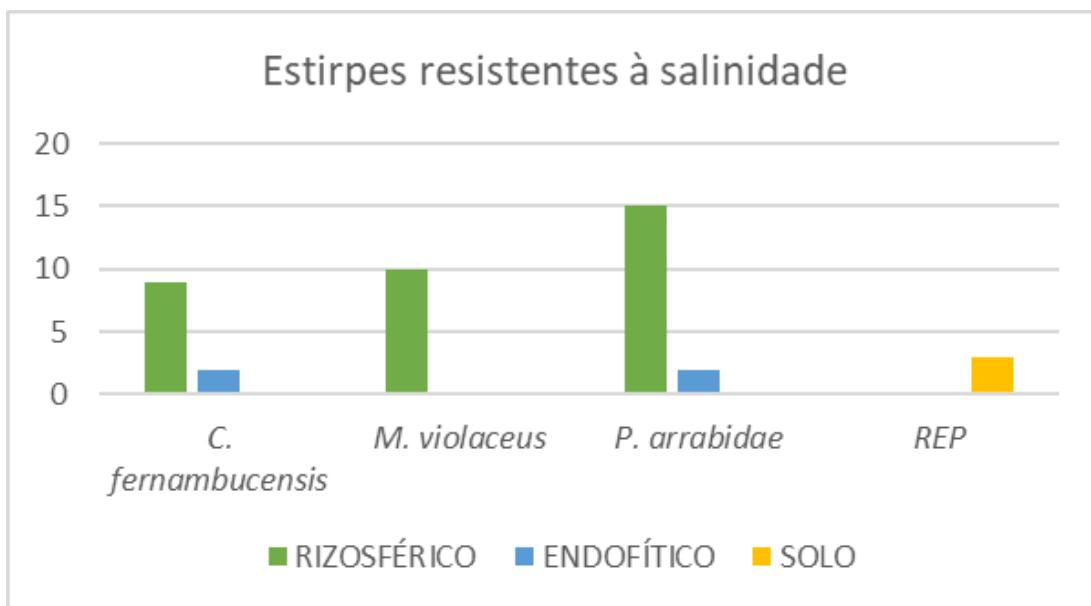


Figura 9 - Gráfico de colunas do número de estirpes resistentes à salinidade por espécie de cactácea: representação ilustrativa do quantitativo de estirpes capazes de resistir à salinidade na concentração NaCl de 131 g/L e a temperatura de 40°C. REP representa as amostras da região entre plantas, constituídas apenas por solo (Fonte: gráfico gerado a partir da plataforma Excel).

5.2 Produção de EPS

Além do teste de tolerância à salinidade, também foi realizado o teste de produção de EPS com 216 bactérias reativadas. As análises foram realizadas de forma qualitativa, classificando as estirpes como produtoras ou não produtoras de EPS (**Figura 10**). *Pilosocereus arrabidae* destacou-se como a planta com o maior número absoluto de estirpes bacterianas produtoras de EPS, 26 bactérias produtoras de EPS, seguido por *Melocactus violaceus*, com 23 isolados produtores de EPS. Além disso, foi observado em *M. violaceus* uma quantidade superior de isolados produtores de EPS dentre os isolados endofíticos.

Na **figura 11** é possível observar as etapas do teste para produção e confirmação da produção de EPS.

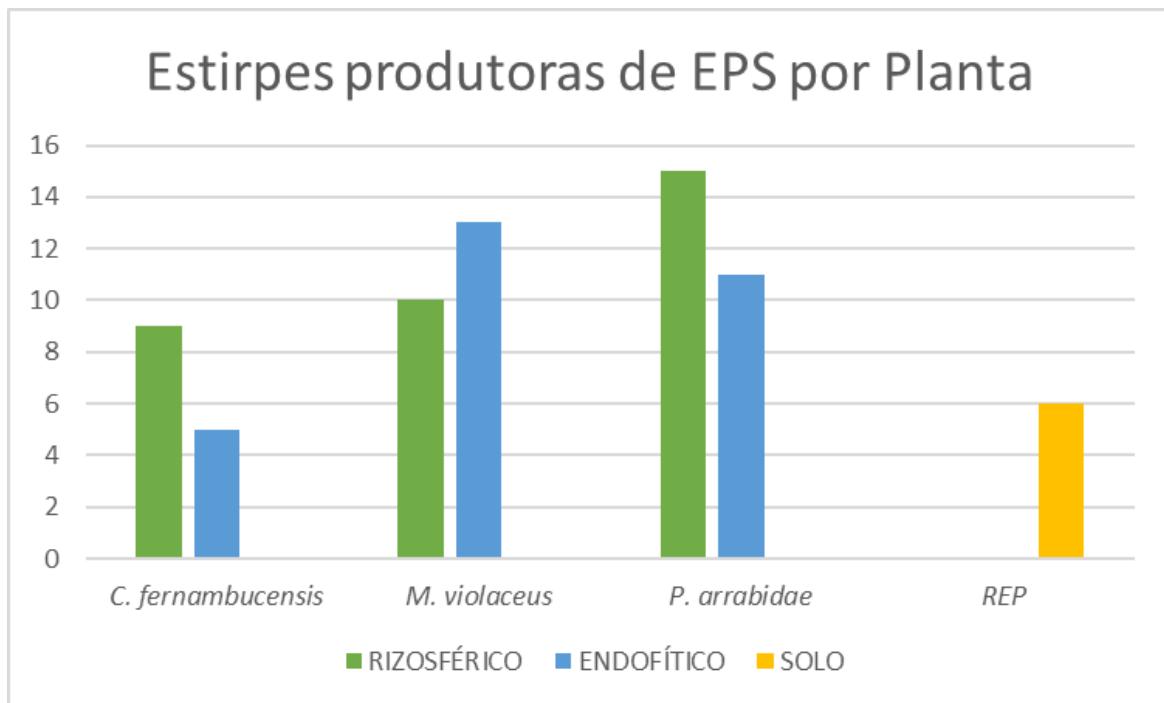


Figura 10 - Gráfico de colunas do número de estirpes produtoras de EPS por espécie de cactácea: representação ilustrativa do quantitativo de estirpes positivas, confirmadas pelo adição do muco em etanol, REP representa as amostras da região entre plantas, constituídas apenas por solo (Gráfico gerado a partir da plataforma Excel).



Figura 11 - Etapas do teste de produção de EPS: (A) Placa contendo meio EPS com discos de papel filtro, a formação de muco em cima do disco indica possível produção de EPS, (B) Etapa de confirmação em etanol gelado, resultado negativo devido a dissolução do muco, (C) Etapa de confirmação em etanol gelado, resultado positivo devido a deposição do muco no fundo do tubo sem dissolução.

5.3 Produção de AIA

A produção de ácido indol acético (AIA) foi avaliada em 216 isolados obtidos, tanto da rizosfera quanto da porção endofítica das plantas estudadas, como também das amostras de solo entre plantas. As análises foram conduzidas de forma quantitativa, utilizando o método colorimétrico com revelador Salkowski, conforme descrito na metodologia. Coloração rosada

observada em alguns poços indica a presença de AIA produzido pelas respectivas estirpes (**Figura 12**).

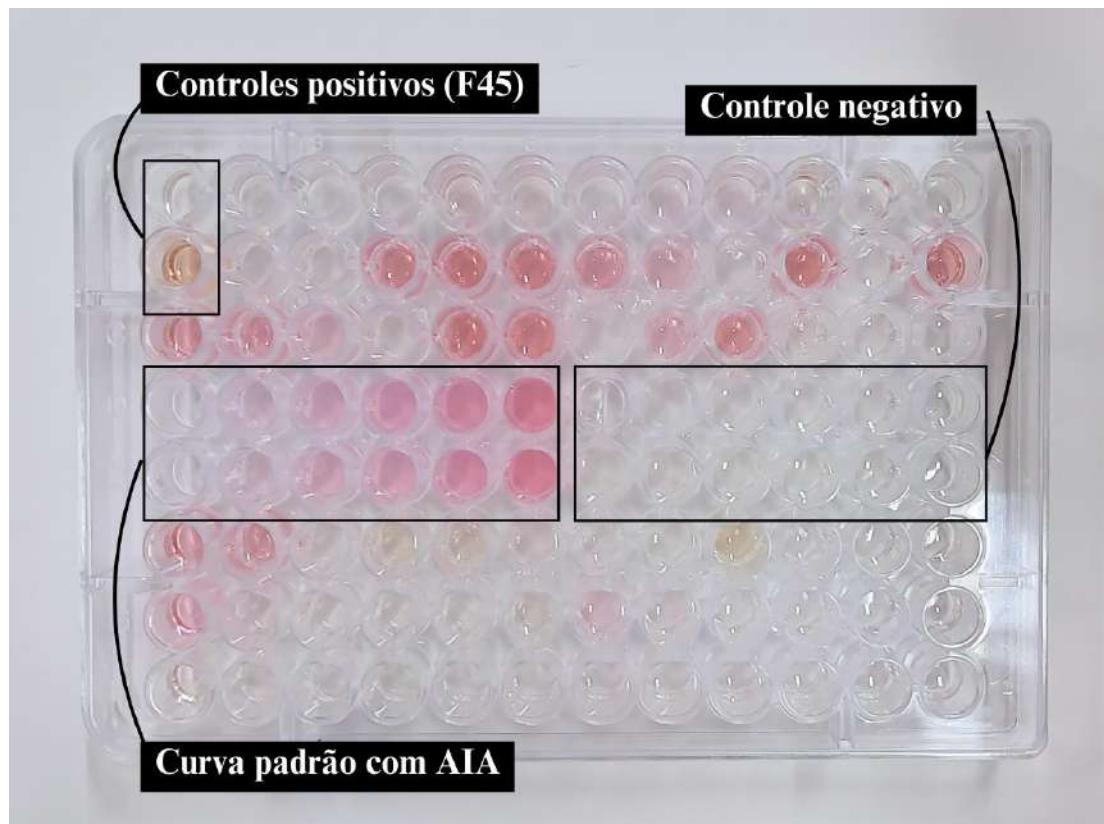


Figura 12 - Foto da placa de leitura utilizada no teste de produção de AIA. Os poços A1 e B1 correspondem aos controles positivos (bactéria F45), reconhecida por sua capacidade de produzir AIA. A curva padrão de AIA, posicionada no centro da placa, fornece uma base para a interpretação quantitativa dos resultados obtidos.

Os resultados demonstraram que 41 apresentaram capacidade de sintetizar AIA, em diferentes concentrações (**Figura 13**), quando comparados ao controle positivo e a curva padrão. Os valores de produção de AIA variaram entre os isolados. O maior valor da produção de AIA foi observado para a estirpe P31, isolada da rizosfera de *Pilosocereus arrabidae*, que apresentou a produção de 178,946 µg/mL de AIA. O maior número de bactérias rizosféricas ou endofíticas produtoras de AIA também foi relacionado a *Pilosocereus arrabidae* com 25 isolados positivos para produção de AIA. Dentre as bactérias rizosféricas ou endofíticas isoladas de *Cereus fernambucensis* e *Melocactus violaceus* foram observados 11 e 3 produtores de AIA, respectivamente. Essas bactérias exibiram valores de produção variando entre 4 e 15 µg/mL de AIA.

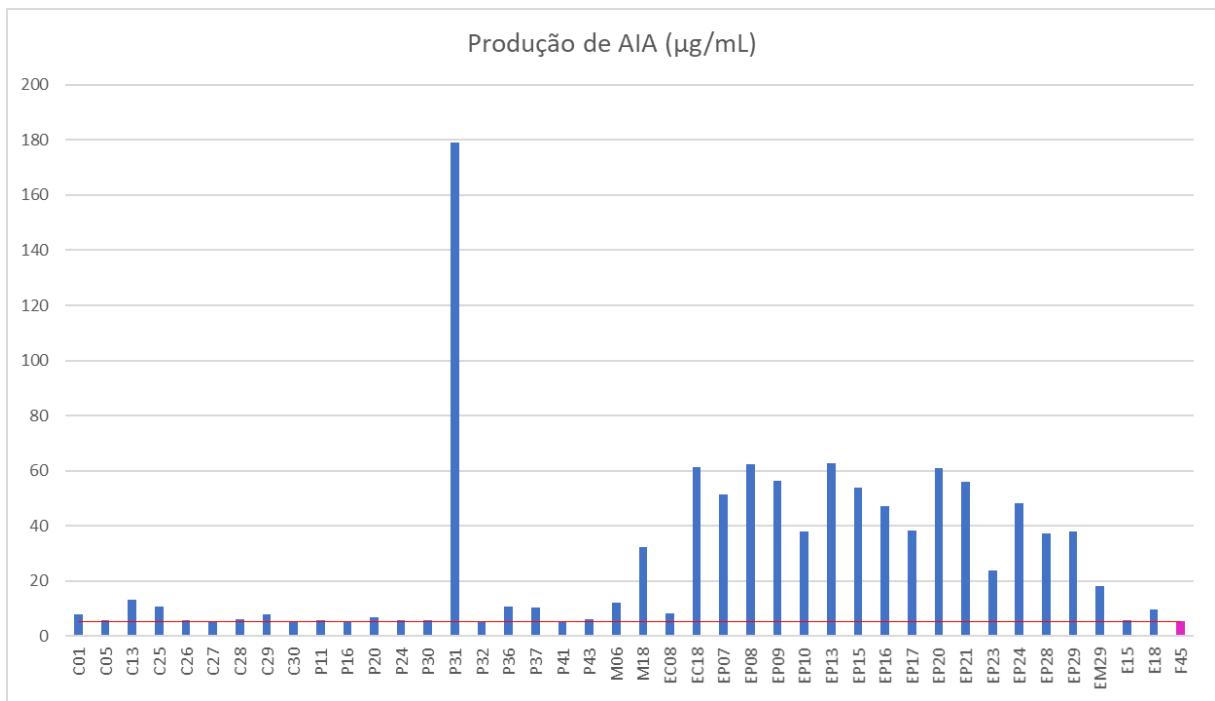


Figura 13 - Gráfico de barras representando o valor de AIA produzido por cada isolado em comparação com ao controle positivo F45 (Gráfico gerado a partir da plataforma excel).

A distribuição de bactérias endofíticas e rizosféricas positivas para produção de AIA obtida de cada planta pode ser observada na **Figura 14**.

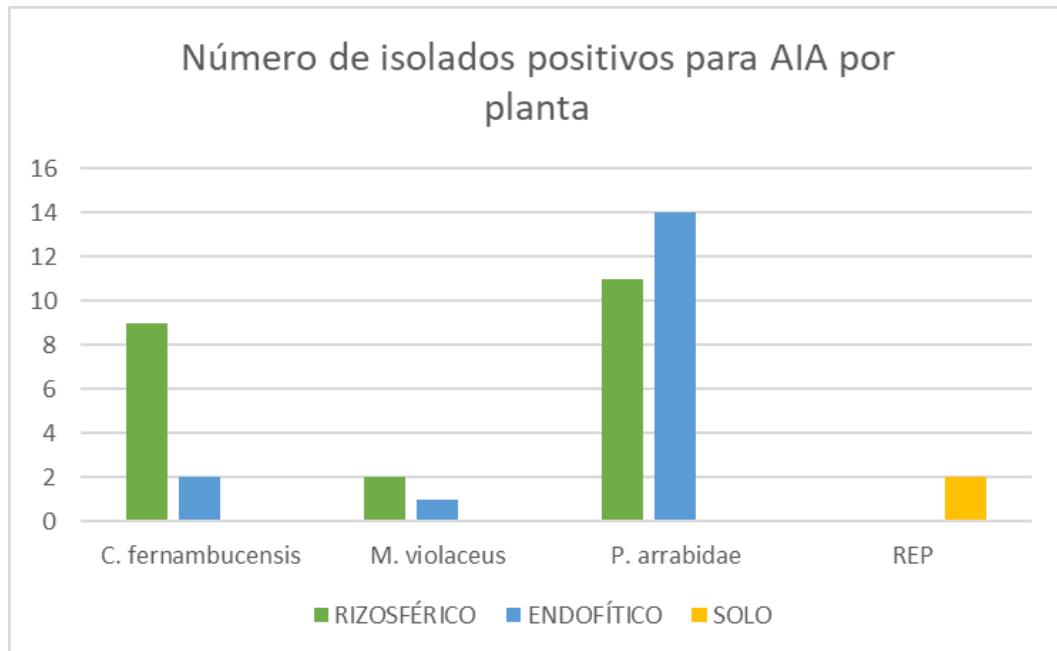


Figura 14 - Gráfico de barras representando o quantitativo de isolados positivos obtidos de cada planta e tipo de isolamento. REP representa as amostras da região entre plantas, constituídas apenas por solo (gráfico de barras gerado a partir da plataforma excel).

5.4 Solubilização de fosfato

O teste de solubilização de fosfato foi realizado com 216 isolados bacterianos utilizando o meio NBRIP modificado, onde a formação de coloração azul após a adição da solução reveladora indicava a solubilização de fosfato pela bactéria. Os resultados indicaram que 122 estirpes bacterianas apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato inorgânico (**Tabela 2**). Entretanto, os valores de solubilização de fosfato inorgânico variaram entre os isolados das diferentes plantas estudadas. Além disso foi notória a ocorrências de muitos isolados positivos para o teste devido a quantidade de poços com intensa cor azulada nas placas de leitura, sobretudo dos isolados de solo e principalmente quando comparados os testes das bactérias de restinga com isolados de outros ambientes (**Figura 15**).

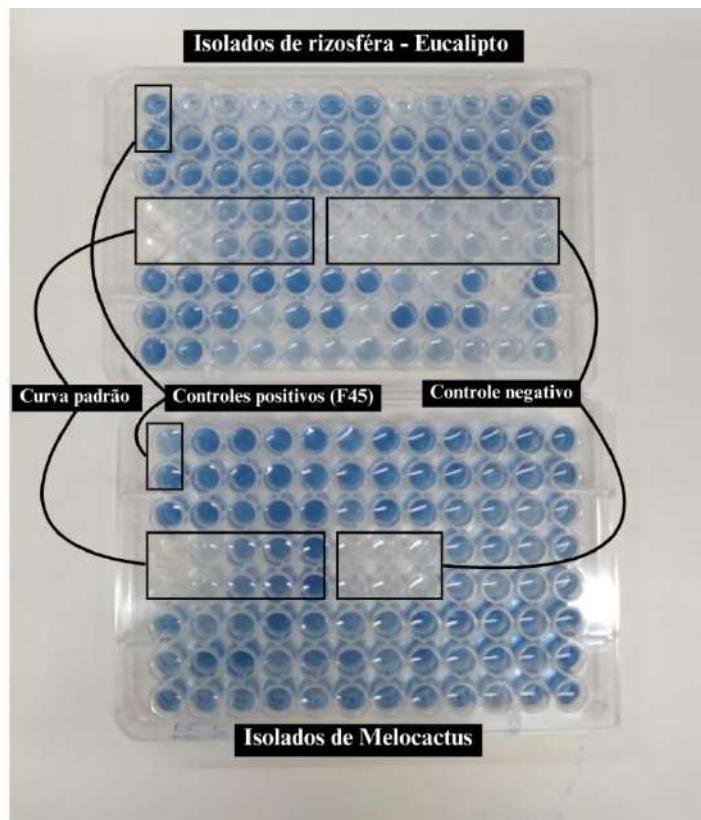


Figura 15 - Comparação da placa de teste de solubilização de fosfato contendo amostras endofíticas de *Melocactus violaceus* e *Cereus fernambucensis* com uma placa contendo isolados rizosféricos de eucalipto. A coloração azul indica positivo para a presença de fosfato inorgânico solubilizado no meio. Quanto maior a concentração de fosfato, mais forte é a coloração azulada..

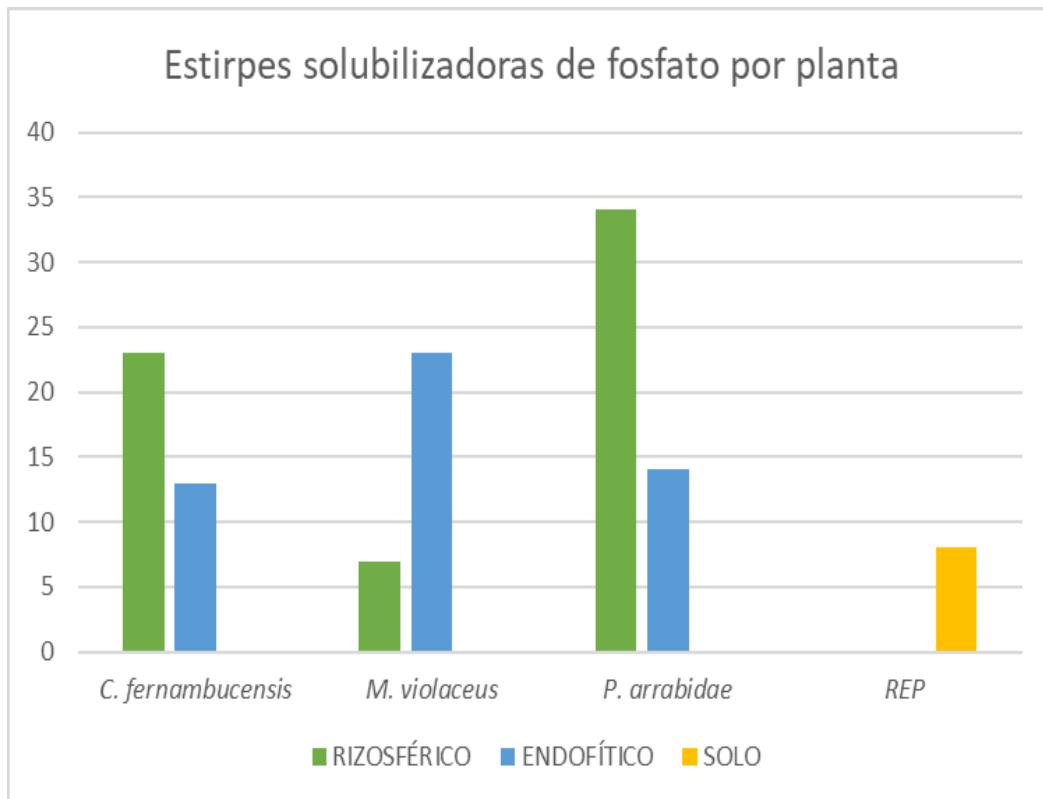


Figura 16 - Gráfico de barras representando o valor de solubilização de fosfato de cada isolado em comparação com a curva padrão. REP representa as amostras da região entre plantas, constituídas apenas por solo (Gráfico de barras gerado a partir da plataforma excel).

O maior número de isolados positivos para a solubilização de fosfato foi obtido de *Pilosocereus arrabidae*, onde 35 bactérias rizosféricas e 14 bactérias endofíticas foram positivas (**Figura 16**). Em relação às bactérias isoladas de *Melocactus violaceus*, as bactérias endofíticas apresentaram um maior número de isolados solubilizadores de fosfato do que as bactérias rizosféricas.

A quantificação da solubilização de fosfato em meio líquido também revelou diferenças na concentração de fósforo solubilizado (mg/L) entre os isolados. O maior valor de solubilização de fosfato inorgânico foi obtido pela estirpe bacteriana P21 isolada de

Pilosocereus arrabidae (654,02 mg/L de solubilização de fosfato inorgânico). O valor médio de solubilização de fosfato observado de todos os isolados positivos foi 32,57 mg/L.

5.5 Resistência ao estresse hídrico

Os resultados dos testes realizados com meio suplementado com sorbitol indicaram que apenas 9 das 216 estirpes bacterianas avaliadas foram capazes de crescer sob condições de estresse hídrico com baixa atividade de água. Em todos os casos, os resultados positivos foram confirmados através do cultivo em meio sólido, onde as estirpes tolerantes apresentaram crescimento uniforme após 72 horas de incubação a 40°C, com formação de colônias visíveis (**Figura 17**). Estirpes bacterianas associadas a *Pilosocereus arrabidae* foram as que mais apresentaram a capacidade de resistência ao estresse hídrico, sendo que 5 estirpes bacterianas foram positivas. Nenhum isolado obtido de *Melocactus violaceus* foi positivo, enquanto para *Cereus fernambucensis*, houveram 3 bactérias positivas. Além disso, 1 estirpe bacteriana isolada do solo foi positiva para o teste de tolerância ao estresse hídrico. A distribuição de bactérias positivas para o teste de resistência ao estresse hídrico pode ser observada na **Figura 18**.



Figura 17 - Etapa final do teste de tolerância ao estresse hídrico com sorbitol. As bactérias que foram capazes de crescer sob essas condições foram consideradas positivas.

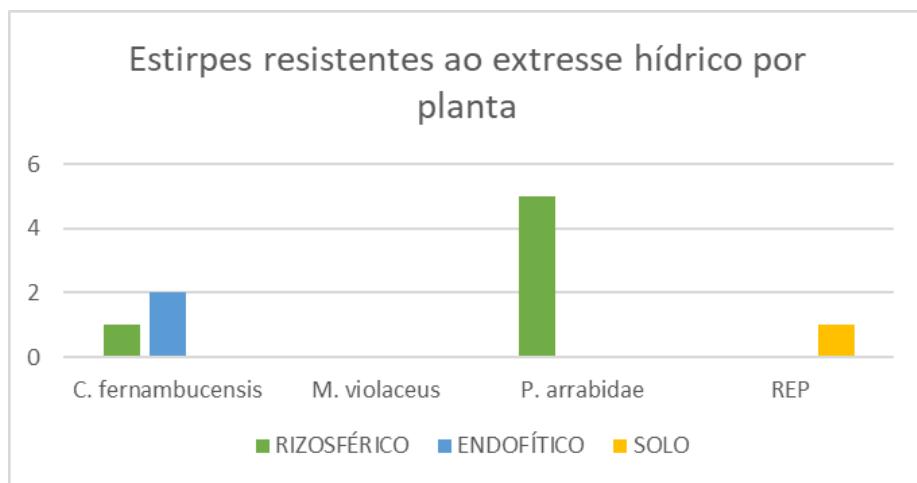


Figura 18 - Gráfico de barras ilustrando a distribuição de estirpes positivas no teste de tolerância ao estresse hídrico por planta (gráfico gerado na plataforma Excel).

5.6 Identificação taxonômica dos isolados

Até o momento, um total de 85 estirpes bacterianas foram identificadas através do sequenciamento do gene que codifica o rRNA 16S. Sendo assim, 37% da coleção bacteriana obtida no presente estudo foi identificada pelo menos a nível de gênero.

A análise taxonômica resultou na identificação ilustrada na **Tabela 1**. A análise das sequências do gene *rrs* revelou a presença de diversos gêneros bacterianos associados às plantas estudadas. Os principais gêneros identificados foram *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Heyndrickxia*, *Peribacillus*, *Lysinibacillus*, *Stenotrophomonas*, *Cellulomonas*, *Curtobacterium*, *Microbacterium*, *Kitasatospora*, *Arhodomonas*, *Halomonas* e *Leifsonia*.

Ao analisar a distribuição dos gêneros por planta, observou-se que em *P. arrabidae* a maior parte dos isolados identificados foram relacionados a bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Lysinibacillus*. Em *C. fernambucensis*, a maior parte dos isolados identificados foram relacionados a bactérias dos gêneros *Heyndrickxia*, *Burkholderia* e *Paenibacillus*. Já em *M. violaceus* a maior parte dos isolados identificados foram relacionados a bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Burkholderia*, *Streptomyces* e *Paenibacillus*. Na **Figura 19** é possível observar a identificação das bactérias consideradas como mais promissoras nos testes realizados nesse trabalho, que podem ser usadas em futuros testes de campo e para elaboração de bioproductos para a agricultura, já que apresentam mais de uma propriedade de PGPB.

O gene que codifica o rRNA 16S da bactéria C29 (obtida da rizosfera de *C.fernambucensis*), que foi a bactérias mais promissora do presente estudo, visto seu resultado positivo em todos os testes de PGPB, apresentou 99,79% de similaridade com *Bacillus wiedmannii*.

Tabela 1 - Identificação dos isolados

Isolado	Nome científico	Cobertura	Identidade	Acesso GenBank
C01	<i>Pantoea deleyi</i>	100%	99%	NR_116114.1
C02	<i>Heyndrickxia camelliae</i>	98%	86%	NR_159341.1
C04		<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>		
C06	<i>Halomonas heilongjiangensis</i>	99%	81%	NR_148316.1
C07	<i>Burkholderia aerigomatica</i>	100%	99%	NR_174230.1
C08	<i>Arhodomonas aquaeolei</i>	40%	75%	NR_044676.2
C09	<i>Heyndrickxia shackletonii</i>	98%	82%	NR_025373.1
C12	<i>Heyndrickxia shackletonii</i>	98%	85%	NR_025373.1
C13	<i>Burkholderia stabilis</i>	98%	88%	NR_118078.1
C16	<i>Bacillus wiedmannii</i>	50%	87%	NR_152692.1
C21	<i>Leifsonia shinshuensis</i>	100%	100%	NR_043663.1
C22	<i>Streptomyces kunmingensis</i>	100%	100%	NR_112435.1
C24	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	96%	NR_152692.1
C25	<i>Paenibacillus chitinolyticus</i>	58%	89%	NR_112053.1
C26	<i>Paenibacillus vulneris</i>	100%	92%	NR_117618.1
C27	<i>Paenibacillus limicola</i>	98%	98%	NR_159295.1
C28	<i>Paenibacillus chitinolyticus</i>	56%	90%	NR_112053.1
C29	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	100%	NR_152692.1
C30	<i>Burkholderia aerigomatica</i>	100%	99%	NR_174230.1
EC03		<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>		
EC04		<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>		
EC05	<i>Paenibacillus senegalimassiliensis</i>	100%	94%	NR_179437.1
EC06	<i>Bacillus nitroreducens</i>	86%	78%	NR_178876.1
EC08	<i>Curtobacterium oryzae</i>	100%	92%	NR_181606.1
EC09		<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>		
EC11	<i>Cellulomonas timonensis</i>	52%	82%	NR_179424.1
EC12		<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>		
EC13	<i>Cellulomonas pakistanensis</i>	100%	88%	NR_125452.1

EC16	<i>Cellulomonas pakistanensis</i>	100%	87%	NR_125452.1
EM02	<i>Bacillus wiedmannii</i>	96%	78%	NR_152692.1
EM03	<i>Kitasatospora viridis</i>	54%	74%	NR_043023.1
EM04	<i>Bacillus wiedmannii</i>	99%	84%	NR_152692.1
EM05	<i>Bacillus wiedmannii</i>	98%	90%	NR_152692.1
EM06	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	85%	NR_152692.1
EM07	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>			
EM08	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	79%	NR_152692.1
EM09	<i>Bacillus wiedmannii</i>	86%	78%	NR_152692.1
EM10	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	95%	NR_152692.1
EM11	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	89%	NR_152692.1
EM12	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>			
EM13	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	96%	NR_152692.1
EM14	<i>Bacillus wiedmannii</i>	98%	82%	NR_152692.1
EM17	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>			
EM18	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>			
EM19	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	79%	NR_152692.1
EM20	<i>Microbacterium marinum</i>	99%	77%	NR_109268.1
EM21	<i>Bacillus tropicus</i>	100%	86%	NR_157736.1
EM22	<i>Bacillus tropicus</i>	45%	81%	NR_157736.1
EM23	<i>Pantoea stewartii</i>	97%	80%	NR_119361.1
EM24	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>			
EM25	<i>Bacillus wiedmannii</i>	95%	85%	NR_152692.1
EM26	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	93%	NR_152692.1
EP01	<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	95%	95%	NR_117474.1
EP03	<i>Bacillus velezensis</i>	100%	95%	NR_075005.2
EP04	<i>Paenibacillus barcinonensis</i>	81%	77%	NR_042272.1
EP05	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>			
EP06	<i>Paenibacillus dongdonensis</i>	57%	82%	NR_134112.1
EP07	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>			

EP08	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	54%	95%	NR_114041.1
EP09	<i>Bacillus wiedmannii</i>	98%	96%	NR_152692.1
EP10	<i>Ectopseudomonas khasarica</i>	95%	86%	NR_169334.1
EP11	<i>Peribacillus simplex</i>	37%	91%	NR_042136.1
EP11	<i>Bacillus wiedmannii</i>	93%	82%	NR_152692.1
EP12	<i>Paenibacillus turicensis</i>	100%	89%	NR_114626.1
EP13	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	86%	91%	NR_114041.1
M01	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M02	<i>Burkholderia cepacia</i>	100%	100%	NR_029209.1
M04	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M05	<i>Heyndrickxia camelliae</i>	100%	89%	NR_159341.1
M06	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M07	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	97%	NR_152692.1
M08	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M09	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M10	<i>Streptomyces harenosi</i>	96%	82%	NR_180427.1
M11	<i>Nitrosomonas halophila</i>	50%	85%	NR_114767.1
M12	<i>Paenibacillus vulneris</i>	100%	98%	NR_117618.1
M13	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M14	<i>Heyndrickxia shackletonii</i>	100%	99%	NR_025373.1
M15	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M16	<i>Paenibacillus cellulositrophicus</i>	100%	96%	NR_116564.1
M17	<i>Streptomyces murinus</i>	31%	83%	NR_042095.1
M18	<i>Bacillus zanthoxyli</i>	100%	100%	NR_164882.1
M19	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M21	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M22	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M23	<i>Nenhum</i> a similaridade encontrada			
M24	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	95%	NR_152692.1
M25	<i>Peribacillus simplex</i>	100%	97%	NR_042136.1

M26	<i>Burkholderia multivorans</i>	100%	100%	NR_118068.1
M27	<i>Streptomyces malaysiense</i>	99%	86%	NR_178689.1
M28	<i>Nenhum a similaridade encontrada</i>			
P01	<i>Paenibacillus cineris</i>	87%	91%	MH298436.1
P02	<i>Nenhum a similaridade encontrada</i>			
P03	<i>Bacillus cereus</i>	100%	98%	JN166077.1
P08	<i>Priestia megaterium</i>	100%	100%	KP163918.1
P09	<i>Nenhum a similaridade encontrada</i>			
P10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93%	85%	CP169762.1
P11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	96%	85%	CP169762
P14	<i>Lysinibacillus boronitolerans</i>	100%	98%	PP767682.1
P16	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31%	94%	CP062219.1
P17	<i>uncultured bacterium</i>	15%	96%	JQ215829.1
P18	<i>Bacillus cereus</i>	100%	99%	JN166077.1
P19	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93%	88%	CP089061.2
P20	<i>Bacillus paramycoïdes</i>	100%	100%	MW664369.1
P21	<i>Nenhum a similaridade encontrada</i>			
P22	<i>Nenhum a similaridade encontrada</i>			
P23	<i>Nenhum a similaridade encontrada</i>			
P24	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	90%	85%	CP110347.1
P25	<i>Lysinibacillus</i> sp,	99%	87%	HQ257252.1
P26	<i>Stenotrophomonas panacihumi</i>	100%	98%	OM971300.1
P27	<i>Uncultured beta proteobacterium</i>	99%	97%	HM110274.1
P29	<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i>	100%	99%	OM971118.1
P30	<i>Nenhum a similaridade encontrada</i>			
P31	<i>Nenhum a similaridade encontrada</i>			
P32	<i>Bacillus cereus</i>	100%	90%	JN166077.1

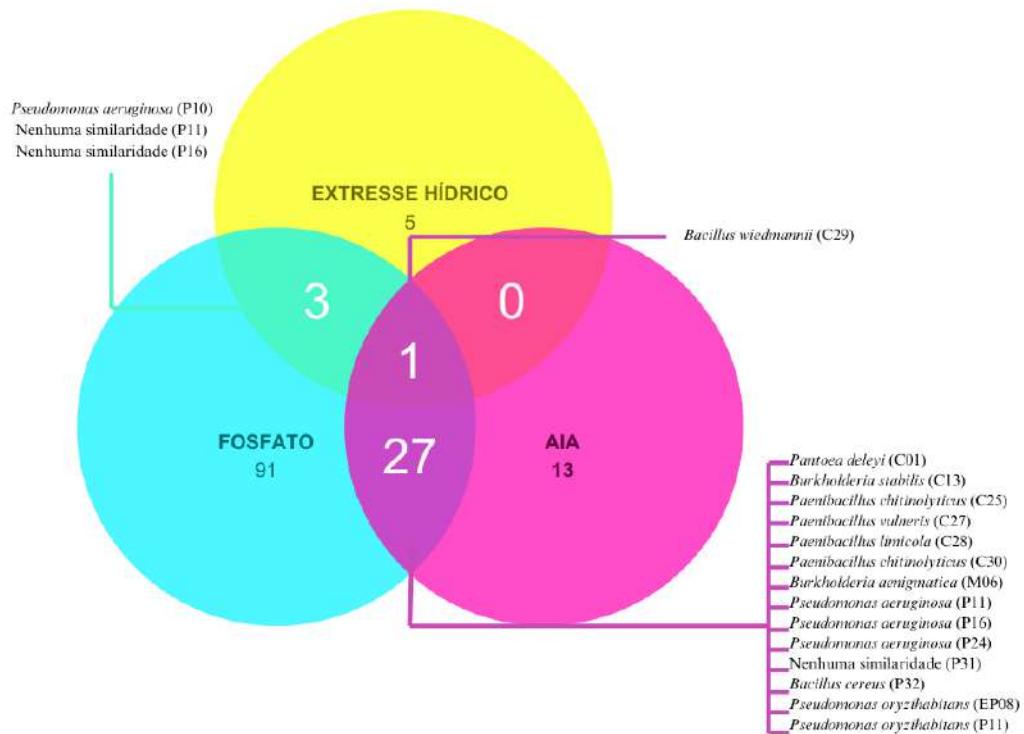


Figura 19 - Diagrama de Venn ilustrando o quantitativo de bactérias positivas nos testes de produção de AIA, solubilização de fosfato e tolerância ao estresse hídrico junto a identificação de bactérias que foram positivas em mais de um teste (Diagrama gerado a partir da plataforma Canva).

5.7 Compilado dos resultados fenotípicos e da identificação molecular

A tabela 2 mostra os resultados obtidos nos testes fenotípicos e nas análises taxonômicas.

Tabela 2 - Compilado dos resultados fenotípicos e da identificação molecular todas as bactérias isoladas de *C. fernambucensis* (Letra C para isolados de rizosfera e EC para isolados endofíticos), *M. violaceus* (Letra M para isolados de rizosfera e EM para isolados endofíticos), *P. arrabidae* (Letra P para isolados de rizosfers e EP para endofíticos).

Isolado	AIA	P	EH	EPS	NaCl	Identificação
C01	7,78	24,88	-	+	+	<i>Pantoea deleyi</i>

C02	-	-	-	+	-		<i>Heyndrickxia camelliae</i>
C04	-	29,99	-	-	-		<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
C05	5,63	38,65	-	-	+		<i>Não identificado</i>
C07	-	30,85	-	-	-		<i>Burkholderia aenigmatica</i>
C08	-	34,26	-	-	-		<i>Arhodomonas aquaeolei</i>
C09	-	28,04	-	-	-		<i>Heyndrickxia shackletonii</i>
C10	-	21,94	-	-	-		
C11	-	33,55	-	+	+		<i>Não identificado</i>
C13	13,17	29,94	-	-	-		<i>Burkholderia stabilis</i>
C14	-	35,88	-	-	-		<i>Não identificado</i>
C15	-	34,35	-	-	-		<i>Não identificado</i>
C16	-	45,36	-	+	+		<i>Bacillus wiedmannii</i>
C20	-	21,91	-	-	-		<i>Não identificado</i>
C21	-	34,01	-	-	-		<i>Leifsonia shinshuensis</i>

C22	-	31,13	-	-	-	<i>Streptomyces kunmingensis</i>
C23	-	32,93	-	-	-	<i>Não identificado</i>
C24	-	34,96	-	+	+	<i>Bacillus wiedmannii</i>
C25	10,80	36,91	-	+	+	<i>Paenibacillus chitinolyticus</i>
C26	5,63	39,72	-	-	-	<i>Paenibacillus vulneris</i>
C27	5,41	29,55	-	-	-	<i>Paenibacillus limicola</i>
C28	6,27	40,23	-	+	+	<i>Paenibacillus chitinolyticus</i>
C29	8,00	41,98	+	+	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
C30	5,19	41,51	-	-	-	<i>Burkholderia aenigmatica</i>
M01	-	-	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
M02	-	33,97	-	-	-	<i>Burkholderia cepacia</i>
M05	-	-	-	+	+	<i>Heyndrickxia camelliae</i>
M06	12,09	35,52	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
M07	-	50,32	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>

M08	-	35,17	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
M09	-	26,74	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
M10	-	32,97	-	-	-	<i>Streptomyces harenosi</i>
M13	-	-	-	+	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
M14	-	-	-	+	+	<i>Heyndrickxia shackletonii</i>
M16	-	-	-	-	-	<i>Paenibacillus cellulositrophicus</i>
M17	-	34,21	-	+		<i>Streptomyces murinus</i>
M18	32,33	-	-	+	+	<i>Bacillus zanthoxyli</i>
M19	-	-	-	+	+	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
M24	-	-	-	+		<i>Bacillus wiedmannii</i>
M25	-	-	-	+	+	<i>Peribacillus simplex</i>
M29	-	-	-	+	+	<i>Não identificado</i>
P01	-	32,61	-	-	+	<i>Paenibacillus cineris</i>
P02	-	31,89	-	+	+	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>

P03	-	-	-	+	+	<i>Bacillus cereus</i>
P04	-	-	-	-	+	<i>Não identificado</i>
P08	-	-	-	-	+	<i>Priestia megaterium</i>
P09	-	22,75	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
P10	-	23,39	+	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P11	5,84	24,26	-	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P12	-	-	-	-	+	<i>Não identificado</i>
P14	-	33,36	-	-	-	<i>Lysinibacillus boronitolerans</i>
P15	-	30,45	-	-	-	<i>Não identificado</i>
P16	5,19	46,44	-	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P17	-	33,95	-	+	+	<i>uncultured bacterium</i>
P18	-	40,05	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
P19	-	42,28	+	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P20	6,92	-	-	-	-	<i>Bacillus paramycooides</i>

P21	-	654	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
P22	-	34,32	+	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
P23	-	23,06	+	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
P24	5,63	34,62	-	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P25	-	29,95	-	-	-	<i>Lysinibacillus sp.</i>
P26	-	28,23	-	-	-	<i>Stenotrophomonas panacihumi</i>
P27	-	31,64	-	-	-	<i>Uncultured beta proteobacterium</i>
P28	-	25,03	-	-	-	<i>Não identificado</i>
P29	-	45,62	-	-	+	<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i>
P30	5,63	-	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
P31	178	43,21	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
P32	5,41	31,06	-	+	-	<i>Bacillus cereus</i>
P33	-	49,18	-	-	-	<i>Não identificado</i>
P34	-	54,47	-	-	-	<i>Não identificado</i>

P35	-	54,62	-	-	-	<i>Não identificado</i>
P36	10,72	32,74	-	-	-	<i>Não identificado</i>
P37	10,28	46,35	-	+	+	<i>Não identificado</i>
P38	-	-	+	-	+	<i>Não identificado</i>
P41	5,57	82,96	-	-	-	<i>Não identificado</i>
P42	-	59,26	-	-	+	<i>Não identificado</i>
P43	6,02	90,25	-	-	-	<i>Não identificado</i>
P44	-	80,17	-	-	-	<i>Não identificado</i>
P45	-	39,44	-	+	+	<i>Não identificado</i>
P46	-	47,55	-	+	+	<i>Não identificado</i>
P47	-	38,19	-	+	+	<i>Não identificado</i>
EC03	-	18,65	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EC04	-	-	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EC05	-	20,22	-	-	-	<i>Paenibacillus senegalimassiliensis</i>

EC06	-	25,19	-	-	-	<i>Bacillus nitroreducens</i>
EC07	-	-	+	+	+	<i>Não identificado</i>
EC08	8,25	-	-	-	+	<i>Curtobacterium oryzae</i>
EC09	-	74,23	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EC10	-	56,90	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EC11	-	39,97	-	-	-	<i>Cellulomonas timonensis</i>
EC12	-	21,30	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EC13	-	27,23	-	-	-	<i>Cellulomonas pakistanensis</i>
EC14	-	78,04	-	-	-	<i>Cellulomonas pakistanensis</i>
EC15	-	19,47	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EC16	-	19,07	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EC17	-	24,80	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EC18	61,15	26,10	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EC20	-	-	+	+	-	<i>Não identificado</i>

EC25	10,80	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EC26	5,63	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EC27	5,41	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EC28	6,27	-	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EC29	8,00	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EC30	5,19	-	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EM01	-	31,92	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EM02	-	32,83	-	+	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM04	-	28,99	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM06	-	33,29	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM07	-	32,96	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EM08	-	31,16	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM09	-	31,75	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM10	-	32,97	-	+	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>

EM11	-	31,77	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM13	-	32,32	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM14	-	32,59	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM16	-	31,67	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EM17	-	32,13	-	+	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EM18	-	30,59	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EM19	-	30,89	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM21	-	31,72	-	-	-	<i>Bacillus tropicus</i>
EM22	-	30,44	-	-	-	<i>Bacillus tropicus</i>
EM23	-	29,79	-	+	-	<i>Pantoea stewartii</i>
EM24	-	30,64	-	+	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EM26	-	31,37	-	+	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EM27	-	31,65	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EM29	18,26	29,61	-	+	-	<i>Não identificado</i>

EM30	-	30,63	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EP04	-	35,93	-	-	-	<i>Paenibacillus barcinonensis</i>
EP05	-	33,52	-	-	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EP06	-	32,19	-	-	-	<i>Paenibacillus dongdonensis</i>
EP07	51,49	-	-	+	-	<i>Nenhuma similaridade encontrada</i>
EP08	62,25	32,42	-	-	-	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
EP09	56,41	-	-	-	-	<i>Bacillus wiedmannii</i>
EP10	37,88	-	-	+	-	<i>Ectopseudomonas khasarica</i>
<i>Peribacillus simplex NBRC 15720 = DSM 1321</i>						
EP11	-	32,42	-	-	+	
EP13	62,61	-	-	+	-	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
EP14	-	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EP15	53,72	-	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EP16	47,21	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EP17	38,38	34,95	-	-	-	<i>Não identificado</i>

EP18	-	32,37	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EP20	60,97	-	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EP21	55,92	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EP22	-	34,18	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EP23	23,97	-	-	+	-	<i>Não identificado</i>
EP24	48,19	32,57	-	-	+	<i>Não identificado</i>
EP27	-	35,22	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EP28	37,39	32,31	-	-	-	<i>Não identificado</i>
EP29	37,84	32,22	-	-	-	<i>Não identificado</i>
E03	-	30,75	-	-	-	<i>Não identificado</i>
E08	-	31,42	-	-	-	<i>Não identificado</i>
E09	-	-	+	-	-	<i>Não identificado</i>
E10	-	-	-	+	+	<i>Não identificado</i>
E12	-	-	-	+	+	<i>Não identificado</i>

E14	-	29,68	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
E15	5,63	-	-	+	+	-	<i>Não identificado</i>
E16	-	31,31	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
E17	-	27,13	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
E18	9,61	36,16	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
E19	-	42,07	-	-	-	-	<i>Não identificado</i>
E20	-	37,85	-	+	+	-	<i>Não identificado</i>
E24	-	-	-	+	+	-	<i>Não identificado</i>
E26	-	-	-	+	+	-	<i>Não identificado</i>

P-Solubilização de fosfato

HE- Estresse hídrico

6. DISCUSSÃO

Este trabalho teve como objetivo estudar o potencial de bactérias associadas a três espécies de cactáceas presentes em ambientes de restinga do Parque Estadual Costa do Sol na promoção do crescimento vegetal. A hipótese principal deste estudo é que bactérias podem auxiliar o desenvolvimento de espécies de cactos que habitam a restinga, por meio da produção de hormônios vegetais, solubilização de minerais e mitigação do estresse hídrico para as plantas.

Destaca-se, ainda, que existem poucos estudos sobre a atividade de PGPB associadas a cactáceas, especialmente aquelas presentes em ambientes de restinga.

Para atingir esse objetivo, três espécies vegetais da família Cactaceae, *Cereus fernambucensis* Lem., *Melocactus violaceus* Pfeiff. e *Pilosocereus arrabidae* (Lem.) foram amostradas, além de terem sido coletadas amostras de solo entre as plantas. De acordo com Santos e colaboradores (2024), as bactérias PGPB associadas a plantas desempenham papéis essenciais ao disponibilizar nutrientes de forma direta ou indireta em diferentes períodos do desenvolvimento vegetal, desde a germinação das sementes até a planta adulta. Sendo assim, as bactérias isoladas neste trabalho apresentam potencial para promover o crescimento de cactáceas em solos de restinga, dado o contexto de condições adversas encontradas nesses ambientes. Por exemplo, os principais fatores abióticos limitantes do crescimento vegetal na restinga são a temperatura, a salinidade e o déficit hídrico. Por esse motivo, todas as estirpes bacterianas isoladas foram testadas quanto à resistência à salinidade, alta temperatura e produção de exopolissacarídeos. Nossa estudo mostrou que diferentes isolados associadas a *Cereus fernambucensis*, *Melocactus violaceuse* e *Pilosocereus arrabidae* são PGPB. Além disso, a partir dos resultados obtidos fica aparente que a diversidade do microbioma varia dependendo da espécie de cactácea estudada.

É importante ressaltar que Martirosyan e colaboradores (2016), já havia mostrado, em estudos anteriores, que as interações planta-microrganismo em arbustos perenes do deserto demonstram que a composição de ordens bacterianas é específica para cada tipo de planta, evidenciando que cada planta cria um microambiente adequado e único. Além disso, estressores ambientais atuam na modulação do microbioma vegetal, por meio da seleção de microrganismos que possuem características adaptativas que lhes permitem sobreviver em condições adversas. De toda maneira, cada propriedade de PGPB avaliada auxilia o crescimento vegetal de maneiras específicas. Segundo Torre e colaboradores (2023), as PGPB halotolerantes conseguem sobreviver em altas concentrações de sal devido a mecanismos como o acúmulo de osmólitos, produção de proteases extracelulares e ativação de antiportadores de Na^+/H^+ . Essas bactérias são encontradas na restinga devido à salinidade ocasionada pelo contato com a água do mar. Como afirmam Alsharif e colaboradores (2020), agregados de solo aderidos às raízes das plantas costumam ser compostos por exsudações radiculares e secreções microbianas, o que proporciona uma melhor resposta ao estresse hídrico e salinidade, como adaptação para tolerar a seca. Esse processo favorece a captação de nutrientes, como fosfato e hormônios, e aumenta

a sobrevivência em condições adversas, favorecendo o desenvolvimento vegetal em diferentes fases da planta.

Em relação a produção de AIA, como descrito por Cassel e colaboradores (2021), a auxina é o hormônio vegetal mais importante do ponto de vista fisiológico da planta, dada sua função essencial no crescimento e manutenção saudável das plantas, sendo responsável, desde a morfogênese, por respostas adaptativas. Trabalhos anteriores, como o de López e colaboradores (2024), que tiveram como objetivo isolar bactérias produtoras de ácido indol acético (AIA) a partir de solos com baixa atividade de água e pobres em matéria orgânica, observaram uma taxa média de produção de 12 µg/mL nos isolados obtidos, um valor aproximado às médias de produção de AIA apresentadas neste estudo, que indicaram uma produção média de 10 µg/mL. Embora os valores obtidos em ambos os estudos sejam similares, eles são significativamente inferiores aos reportados em outros trabalhos que isolaram bactérias de solos arenosos de desertos, como o estudo de Goudjal e colaboradores (2013), que encontrou uma média de produção de AIA de 31,52 µg/mL com a produção do fitohormônio variando entre 17 e 100 µg/mL entre os 19 isolados positivos obtidos pelos autores.

Interessantemente, a média da produção de AIA observada no presente estudo variou de acordo com a origem das bactérias analisadas. Por exemplo, as bactérias isoladas de *Pilosocereus* apresentaram uma média de produção de 37,84 µg/mL de AIA, superior às de *Cereus* e *Melocactus*, que apresentaram taxas produção de 7,78 µg/mL e 18,25 µg/mL de AIA, respectivamente. Esses resultados sugerem que a diversidade de espécies vegetais e o tipo de ecossistema de onde as bactérias são isoladas podem influenciar diretamente a capacidade de produção de AIA. Do total de 41 bactérias positivas para produção de AIA, 25 foram obtidas de *Pilosocereus*, sendo 11 bactérias rizosféricas e 14 endofíticas, representando cerca de 61% dos isolados positivos para o teste de AIA.

Já é de conhecimento por meio da literatura que a interação microrganismo-planta pode ser benéfica para ambas as partes, tanto para plantas quanto para microrganismos, pois enquanto o microrganismo pode fixar e disponibilizar nutrientes para a planta, a espécie vegetal pode favorecer a proliferação e metabolismo microbiano através da liberação de exsudados pelas raízes, o que aumenta significativamente a proliferação dos microrganismos (Vishwakarma *et al.*, 2017). Substratos liberados pelas raízes das plantas como íons, enzimas, mucilagem e diversos outros são de extrema utilidade para otimização da produção de metabólitos primários e secundários por bactérias e fungos (Embrapa, 2022). Vishwakarma e colaboradores (2017)

afirmam que é comum o transporte de substâncias naturais, como compostos fenólicos, ácidos carboxílicos, açúcares e aminoácidos, como o triptofano, um precursor de AIA, da planta para o solo, facilitado pela formação de um gradiente de concentração entre o citosol das células radiculares (com alta concentração) e o solo (com baixa concentração). Como afirma Machado (2016), os exsudatos radiculares representam uma fonte significativa de L-triptofano, um aminoácido essencial que atua como precursor na síntese de AIA (ácido indolacético) por microrganismos que colonizam a rizosfera, dessa forma, fica evidente que esses exsudatos, compostos por uma variedade de substâncias orgânicas liberadas pelas raízes das plantas, fornecem nutrientes que favorecem a atividade metabólica de diversas bactérias benéficas, promovendo o crescimento e desenvolvimento das plantas por meio da modulação das interações planta-microrganismo na rizosfera. Dessa forma, fica evidente que as interações entre bactérias e plantas podem trazer inúmeros benefícios para ambas as espécies. Essas interações fornecem precursores e nutrientes aos microrganismos, que, por sua vez, produzem substâncias capazes de promover a sobrevivência e o desenvolvimento das plantas.

Outra característica limitante ao crescimento vegetal é a disponibilidade de fósforo. Em um estudo realizado por Oliveira e colaboradores (2024), foram isoladas 32 bactérias de três diferentes áreas, descritas da seguinte forma: ACA - área de solo preservado, localizada no bioma Amazônico, com 10 isolados; AAC - área agrícola localizada no bioma Cerrado, com 18 isolados; e ADC - área degradada com subsolo exposto, também localizada no bioma Cerrado, com 4 isolados. Foi observado neste estudo que as estirpes obtidas das áreas de Cerrado (AAC e ADC), que possuem solos com algumas características semelhantes aos solos de restinga, como baixa fertilidade natural e textura arenosa, devido principalmente à mescla entre ecossistemas (Sacramento *et al.*, 2007), apresentaram índices de solubilização de fosfato de cálcio adicionados ao meio de cultura significativamente maiores do que os isolados provenientes da área ACA. Além disso, as bactérias consideradas mais promissoras no teste foram obtidas da área agrícola no Cerrado (AAC), sendo os isolados AAC01 e AAC04 os que apresentaram alta capacidade de solubilização de fosfato de cálcio, além de também serem capazes de solubilizar ferro.

Assim como observado por Oliveira e colaboradores (2024), nossos resultados mostraram que a maioria das bactérias isoladas das cactáceas presentes nos solos arenosos da restinga possuem a capacidade de solubilizar $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Fosfato tricálcico). Foram identificadas como solubilizadoras um total de 122 estirpes, o que representa cerca de 56,48% do total de

isolados testados, sendo a maior parte dos isolados positivos provenientes da planta *Pilosocereus arrabidae*, principalmente da porção rizosférica. Vale ressaltar também que a maior parte dos isolados considerados positivos foi obtida da porção rizosférica das plantas, para *Cereus* e *Pilosocereus*, já para *Melocactus violaceus*, a a maior parte dos isolados positivos foi da porção endotífica. Ademais, a média de solubilização de todos os isolados foi de 32,57 mg/L, valor superior ao controle positivo F45, que teve média de solubilização de 18 mg/L.

Um dado relevante para a presença desse fenótipo nas bactérias isoladas dos solos da restinga é apresentado no estudo realizado por Gomes e colaboradores (2007), sobre a caracterização geomorfológica e química de três diferentes áreas de restinga. Gomes e colaboradores (1998) indicam que existe um acúmulo de P inorgânico nas camadas mais profundas do solo de diversas áreas, ocasionado, sobretudo, pela composição de sílica nos solos de restinga, além de poder se ligar a outros minerais e ser lixiviado para as camadas mais profundas do solo. Isso evidencia a disponibilidade de fósforo inorgânico em solos arenosos, como o de restinga, o que pode criar um ambiente favorável para bactérias solubilizadoras de fosfato.

Outro estudo realizado por Almeida (2021), onde foram isoladas bactérias do solo de caatinga e realizados testes em meio sólido através do halo de solubilização de fosfato, destaca a eficiência de 11 isolados, de um total de 57, solubilizadores de fosfato a partir desses solos. Nesse estudo, 7 isolados foram considerados como altos solubilizadores (IS variando de 3,102 a 12,750), devido ao seu índice de solubilização (IS) maior que 3. Um isolado foi considerado médio solubilizador (IS 2,735), enquanto os outros três isolados foram considerados baixos solubilizadores, com IS variando de 1,140 a 1,417. Dessa forma, fica evidente que, sendo considerados solos com baixa disponibilidade de nutrientes e com porções arenosas, tanto na restinga, como no Cerrado e na Caatinga, há a presença de fatores que modulam a seleção de comunidades microbianas adaptadas às condições desses ambientes, de forma que o desenvolvimento das plantas seja facilitado por fungos, bactérias e outros microrganismos, compensando as condições de estresse abiótico encontradas nesses ecossistemas.

Há muitos fatores que podem interferir no desenvolvimento natural das plantas, entre os quais a estiagem e a má disponibilidade de água, condições que acarretam o estresse hídrico (Campos *et al.*, 2021). Segundo Vurukonda e colaboradores (2016), em condições de estresse ambiental, diversas espécies vegetais são capazes de liberar exsudatos radiculares que atraem bactérias promotoras do crescimento de plantas presentes no solo, contribuindo para mitigar os

efeitos do estresse hídrico. Lebre e colaboradores (2017), definem bactérias capazes de sobreviver em condições de baixa atividade de água como xerotolerantes, que costumam ser encontradas, sobretudo, em ambientes constantemente expostos ao estresse hídrico, como restingas, biomas de cerrado ou caatinga.

Embora o estresse hídrico seja uma característica dos solos de restinga, neste trabalho 9 do total de 216 estirpes bacterianas testadas foram capazes de crescer em condições de estresse hídrico devido à baixa atividade de água, o que representa 3,9% do total de isolados testados. Godinho e colaboradores (2019), mostraram que a resistência ao estresse hídrico é uma característica observada em bactérias obtidas a partir de solos de caatinga. Mesmo que esse número não seja elevado, é importante destacar a relevância dos isolados capazes de crescer sob condições de estresse hídrico, caracterizadas por alta temperatura e baixa atividade de água, que raramente são favoráveis ao crescimento de outros microrganismos. Os resultados obtidos na identificação dos isolados indicam uma ampla diversidade de gêneros bacterianos associados às cactáceas estudadas, demonstrando a importância das interações planta-microrganismo para a adaptação e sobrevivência em ambientes com adversidades químicas, físicas e biológicas. Os gêneros mais prevalentes, como *Bacillus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus* e *Pseudomonas*, são conhecidos por suas propriedades promotoras de crescimento vegetal (PGPB), incluindo a produção de fitohormônios, solubilização de fósforo e tolerância a estresses abióticos (Glick, 2012; Lugtenberg & Kamilova, 2009).

A predominância de *Bacillus* em *Pilosocereus arrabidae* e *Melocactus violaceus* está alinhada com estudos que destacam a ampla distribuição e versatilidade desse gênero em diferentes ecossistemas, particularmente em condições adversas como é o caso da restinga, onde ele atua como um biofertilizante natural e agente de biocontrole (López-Bucio *et al.*, 2007). A presença de *Burkholderia* e *Paenibacillus* em *Cereus fernambucensis* também é relevante, pois essas bactérias possuem papéis cruciais na promoção de crescimento e na indução de tolerância a salinidade e seca, características frequentemente associadas a ambientes de restinga (Marasco *et al.*, 2018).

De todas as bactérias analisadas, o isolado C29, relacionado com *Bacillus wiedmannii* (C29), merece destaque já que essa bactéria apresentou múltiplas propriedades de PGPB, como solubilização de fósforo, tolerância ao estresse hídrico e produção de fitohormônios. Como afirma Miller e colaboradores, 2016, essa espécie é gram-positiva, formadora de esporos e anaeróbia facultativa, pertencente ao grupo *Bacillus cereus*. Foi identificada pela primeira vez

em 2016, isolada de leite cru armazenado em uma planta de processamento de laticínios nos Estados Unidos, porém também encontrado em solos, plantas e outros ambientes naturais estando geralmente associada a infecções alimentares pela produção de toxinas. A identificação de *Bacillus wiedmannii* sugere um potencial uso biotecnológico dessa bactéria, tanto em plantações agrícolas quanto para recuperação do microbioma de áreas degradadas e consequente recuperação da vegetação nativa de restinga, dado o seu desempenho superior em testes laboratoriais.

Por fim, a associação de diferentes gêneros bacterianos a cada espécie de cactácea indica uma especificidade planta-microrganismo, possivelmente influenciada pelos exsudatos radiculares e pelo microambiente único de cada planta (Badri & Vivanco, 2009). Essa especificidade ressalta o potencial de exploração biotecnológica de microbiotas associadas a cactáceas em estratégias sustentáveis de manejo agrícola e restauração ambiental.

7. CONCLUSÕES

O presente estudo revelou a diversidade de bactérias associadas às cactáceas *Pilosocereus arrabidae*, *Cereus fernambucensis* e *Melocactus violaceus*, destacando gêneros como *Bacillus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus* e *Pseudomonas*, amplamente reconhecidos por suas propriedades promotoras de crescimento vegetal (PGPB).

A identificação de *Bacillus wiedmannii* como um isolado com múltiplas propriedades de PGPB (Resistência ao estresse hídrico, produção de AIA e solubilização de fosfato) ressalta o potencial biotecnológico de bactérias associadas a cactáceas, especialmente em aplicações voltadas à agricultura sustentável e restauração ambiental.

Esse trabalho contribui para o entendimento dos microbiomas associados a cactáceas da restinga e reforça a importância de estudos integrados que combinem ferramentas moleculares e ecológicas para explorar o potencial funcional dessas interações simbióticas. Investigações futuras podem aprofundar a caracterização funcional dos isolados identificados, bem como avaliar suas aplicações práticas em condições de campo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26(1), 1-20.
- Ahemad, M., e Khan, M. S. (2012). Evaluation of plant-growth-promoting activities of rhizobacterium *Pseudomonas putida* under herbicide stress. *Annals of Microbiology*, 62(4), 1531-1540.
- Almeida, S. (2021) Seleção de bactérias diazotróficas não simbióticas solubilizadoras de fosfatos. Universidade Federal de Alagoas.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- Andrade, D., & Farney, C. (2011). Estrutura do estrato herbáceo de uma restinga arbustiva aberta na APA de Massambaba, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, 62(2), p.367-378.
- Araujo, D., (2009). Área de Proteção Ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro caracterização fitofisionômica e florística. *Rodriguésia*, v. 60, p. 67-96.
- Arruda, R., Viglio, F., e Barros, M. (2009) Anatomia Foliar de Halófitas E Psamófilas Reptantes Ocorrentes Na Restinga de Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, vol. 60, no. 2, pp. 333–3.
- Azevedo, N., Martin, A., Oliveira, A. e Scarpa, D. (2017) Ecologia na restinga: uma sequência didática argumentativa.
- Badri, D. V., & Vivanco, J. M. (2009) Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell & Environment*, 32(6), 666–681.
- Barthlott, W., & Taylor, N. P. (1995). Notes towards a monograph of Rhipsalideae (Cactaceae). *Bradleya*, 13, 43–79.
- Bashan, Y., & Holguin, G. (2002). Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. *Trees*, 16(2–3), 159–166.
- Beraldo, J.B., Polonio, J. C., Schoffen, R. P., Oliveira, J. A. S., Polli, A. D., Abreu Filho, B. A., Cruz, E., Correa, J. L., Mangolin, C. A., e Machado, M. F. P. S. “Communities of Endophytic Bacteria from *Cereus Peruvianus* Mill. (Cactaceae) Plants Obtained from Seeds and from in Vitro-Regenerated Somaclone.” *South African Journal of Botany*, vol. 142, 1 Nov.
- Bohrer, C. B. A., Dantas, H. G. R., Cronemberger, F. M., Vicens, R. S., e Andrade, S. F. (2009). Mapeamento da vegetação e do uso do solo no Centro de Diversidade Vegetal de Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, 60(1), 1–23.
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., Cope, E. K., Da Silva, R., Diener, C., Dorrestein, P. C., Douglas, G. M., Durall, D. M., Duvallet, C., Edwardson, C. F., Ernst, M., Estaki, M., Fouquier, J., Gauglitz, J. M., Gibbons, S. M., Gibson, D. L., Gonzalez, A., Gorlick, K., Guo, J., Hillmann, B., Holmes, S., Holste, H., Huttenhower, C., Huttley, G. A., Janssen, S., Jarmusch, A. K., Jiang, L., Kaehler, B. D., Kang, K. B., Keefe, C. R., Keim, P., Kelley, S. T., Knights, D., Koester, I., Kosciolka, T., Kreps, J., Langille, M. G. I., Lee, J., Ley, R., Liu, Y. X., Loftfield, E., Lozupone, C., Maher, M., Marotz, C., Martin, B. D., McDonald, D., McIver, L. J., Melnik, A. V., Metcalf, J. L., Morgan, S. C., Morton, J. T., Naimey, A. T., Navas-Molina, J. A., Nothias, L. F., Orchanian, S. B., Pearson, T., Peoples, S. L., Petras, D., Preuss, M. L., Pruesse, E., Rasmussen, L. B., Rivers, A., Robeson II, M. S., Rosenthal, P., Segata, N., Shaffer, M., Shiffer, A., Sinha, R., Song, S. J., Spear, J. R., Swafford, A. D., Thompson, L. R., Torres, P. J., Trinh, P., Tripathi, A., Turnbaugh, P. J., Ul-Hasan, S., van der Hooft, J. J. J., Vargas, F., Vázquez-Baeza, Y., Vogtmann, E., von Hippel, M., Walters, W., Wan, Y., Wang, M.,

Warren, J., Weber, K. C., Williamson, C. H. D., Willis, A. D., Xu, Z. Z., Zaneveld, J. R., Zhang, Y., Zhu, Q., Knight, R., e Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37(8), 852–857.

Callahan, B. J., McMurdie, P. J. e Holmes, S. P. Exact Sequence Variants Should Replace Operational Taxonomic Units in Marker-Gene Data Analysis. *The ISME Journal*, vol. 11, no. 12, 21 July 2017, pp. 2639–2643, academic.oup.com/ismej/article/11/12/2639/7537828?login=false, <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>. Acesso: 21 Junho 2024.

Calvente, A. M., Freitas, F. M., e Andreata, R. H. P. (2005). Listagem, distribuição geográfica e conservação das espécies de Cactaceae no estado do Rio de Janeiro. *Rodriguésia*, 56(87), 141–162.

Campos, A., Santos, S., e Nacarath, I. (2021) Estresse hídrico em plantas: uma revisão. Instituto Educacional Santa Catarina.

Carvalho, A. S. da R., Andrade, A. C. S. de, Sá, C. F. C. de, Araujo, D. S. D. de, Tierno, L. R. e Fonseca-Kruel, V. S. (2018). Restinga de Massambaba Vegetação, Flora, Propagação, Usos. Instituto De Pesquisas Jardim Botânico Do Rio De Janeiro.

Carvalho, D. e Sá, C. (2011). Estrutura do estrato herbáceo de uma restinga arbustiva aberta na APA de Massambaba, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, v. 62, p. 367-378.

Chen, Y. P., Rekha, P. D., Arun, A. B., Shen, F. T., Lai, W.-A. e Young, C. C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*, vol. 34, no. 1, pp. 33-41, 2006.

Clipson, N. e Otte, M.; Landy, E. (2006). Biogeochemical roles of fungi in marine and estuarine habitats. In: Gadd, G. M. *Fungi Biogeochemical Cycles*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, pp. 437-461.

Conselho Nacional do Meio Ambiente. (1999). Resolução nº 261/1999. Ministério do Meio Ambiente. Recuperado de <http://www.mma.gov.br/port/conama/res>

EMBRAPA. (2024). Mecanismos das bactérias promotoras do crescimento de plantas. Embrapa. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1144322/1/DOC-267-Mecanismos-das-bacterias-promotoras-do-crescimento-de-plantas.pdf>. Acesso: 27 nov. 2024.

Etesami, H. e Glick, B.R. “Halotolerant Plant Growth–Promoting Bacteria: Prospects for Alleviating Salinity Stress in Plants. (2020) *Environmental and Experimental Botany*, vol. 178, 1 Oct. 2020, pp. 104124–104124, www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847220301507?casa_token=cSoGz4u0vXQAAAAA:hnNTTEX6S75hNNG6kucuKCZ4GxkfRt2tzz9d1oIr7cKthJJEUOL_pea4taICTGQGPmL-POnC9IK, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104124>. Acesso: 14 Junho 2024.

Fidelis, J. (2023). Estudo da microbiota associada às cactáceas e do potencial biotecnológico de estirpes bacterianas na resistência ao estresse hídrico e à salinidade [Monografia de Bacharelado, Universidade Federal do Rio de Janeiro]. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Freitas, M. “Cactaceae Da Área de Proteção Ambiental Da Massambaba, Rio de Janeiro, Brasil. (1990)” *Rodriguésia*, vol. 42-44, no. 68-70, 1 Jan. 1990, pp. 67–91, www.scielo.br/j/rod/a/Y7GdSfYN9VVsRVkJtpG9ry/?lang=pt, <https://doi.org/10.1590/2175-7860199019924244687007>. Acesso: 13 Junho 2024.

Gatiboni, L. C., Kaminski, J., Rheinheimer, D. S. e Flores, J. P. Cassol. (2007) Biodisponibilidade de formas de fósforo acumuladas em solo sob sistema plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 31, n. 7, p. 1431-1443.

Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, v. 2012, 2012.

- Godinho, B. T. V., Tavares, A. N. G., Lana, U. G. P., Sousa, S. M., Paiva, C. A. O., Marriel, I. E., & Gomes, E. A. (2019). Isolamento e potencial uso de bactérias do gênero *Bacillus* na promoção de crescimento de plantas em condições de déficit hídrico. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 192, Embrapa Milho e Sorgo.
- Gomes, F. H., Vidal-Torrado, P., Macías, F., Gherardi, B., & Otero Perez, X. L. (2007). Solos sob vegetação de restinga na Ilha do Cardoso (SP): I - Caracterização e classificação. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31(6), 1563-1580.
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu, F., e Zitouni, A. (2013). Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(10), 1821–1829. doi:10.1007/s11274-013-1344-y
- Henriques, R. P. B.; Araujo, D. S. D.; Hay, J. D. (1986). Descrição e classificação dos tipos de vegetação da restinga de Carapebus, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Botânica*, vol. 9, pp. 173–189.
- IBGE (2009). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Manuais Técnicos em Geociências: Manual Técnico de Geomorfologia. 2º Edição. Rio de Janeiro: IBGE, 2009.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007) 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761–2764.
- Kavamura, V. (2013). Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiological research*, v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013.
- King, E. O., Ward, M. K. e Raney, D. E. (1954) Two Simple Media for the Demonstration of Pyocyanin and Fluorescin. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, vol. 44, no. 2, 2024, pp. 301–307, [www.translationalres.com/article/0022-2143\(54\)90222-X/abstract](http://www.translationalres.com/article/0022-2143(54)90222-X/abstract). Acesso: 21 Junho 2024.
- Künstler, A., Füzeák, K., Schwarczinger, I., Nagy, J. K., Bakonyi, J., Fodor, J., Hafez, Y. M., e Király, L. (2023). Heat shock-induced enhanced susceptibility of barley to Bipolaris sorokiniana is associated with elevated ROS production and plant defence-related gene expression. *Plant Biology*, 25, 803–812.
- Lebre, P. H., Maayer, P. D., e Cowan, D. A. (2017) Xerotolerant bacteria: surviving through a dry spell. *Nature Reviews, Microbiology*, 15(5), 285-296.
- Lemanceau, P., Bauer, P., Kraemer, S. e Briat, J.-F.. (2009). Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. *Plant and Soil*, v. 321, n. 1, p. 513-535.
- Lerner, F. e Jeronymo, C. A. L.. Entre Salinas, Moradias e Resort: Conflitos de uso e Cobertura da Terra na Área de Proteção Ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro, Brasil / between Salinas, Housings and Resort: Conflicts of Use and Land Cover in Environmental Protection (...)." *Caderno de Geografia*, vol. 27, no. 50, 3 Aug. 2017, p. 534, www.redalyc.org/pdf/3332/333251655008.pdf, <https://doi.org/10.5752/p.2318-2962.2017v27n50p534>. Acesso: 4 Abril 2021.
- López, Luiz., Castro Azareel., Tofoya, Felipe., Acosta, Mitzy., López, Jorge., Sanchez, Jesús, e Bueno, Luis. (2007). Bacterias productoras de ácido indolacético aisladas de suelos de Sinaloa. 54.
- López-Bucio, J., Campos-Cuevas, J. C., Hernández-Calderón, E., Velásquez-Becerra, C., Farías-Rodríguez, R., Macías-Rodríguez, L. I., & Valencia-Cantero, E. (2007) *Bacillus megaterium* rhizobacteria promote growth and alter root-system architecture through an auxin- and ethylene-independent signaling mechanism in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(2), 207-217.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009) Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541–556.
- Machado, T., Junior, M., Côrtes, M., & Barbosa, E. (2016) Produção de ácido indol-acético por isolados de

Trichoderma spp. 10º Seminário Jovens Talentos: Coletânea dos Resumos.

Manlay, R. J., Cadet, P., Thioulouse, J. e Chotte, J.-L. (2000). Relationships between abiotic and biotic soil properties during fallow periods in the sudanian zone of Senegal. *Applied Soil Ecology*, v. 14, n. 2, p. 89-101.

Marasco, R., Rolli, E., Fusi, M., Michoud, G., & Daffonchio, D. (2018) Insights Into Microbially Induced Salt Tolerance and Endurance Mechanisms (STEM) in Plants. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2273.

Mauseth, J D.(2006) Structure-Function Relationships in Highly Modified Shoots of Cactaceae. *Annals of Botany*, vol. 98, no. 5, 22 Aug. 2006, pp. 901–926, pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16820405/, <https://doi.org/10.1093/aob/mcl133>. Acesso: 13 Junho 2024.

Murphy, J. e Riley J.P. A Modified Single Solution Method for the Determination of Phosphate in Natural Waters. *Analytica Chimica Acta*, vol. 27, 1 Jan. 1962, pp. 31–36, www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267000884445, [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(00)88444-5). Acesso: 21 Junho 2024.

Nautiyal, C.S. An Efficient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 170, no. 1, 1 Jan. 1999, pp. 265–270, academic.oup.com/femsle/article/170/1/265/454487?login=false, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>. Acesso: 21 Junho 2024.

Nepomuceno, Á., Miranda, V. S. e Alves-Araújo, A.(2022). Flora of Itaúnas State Park, Espírito Santo, Brazil: Cactaceae. *Rodriguésia*, vol. 73, 2022, <https://doi.org/10.1590/2175-7860202273001>. Acesso: 28 Junho 2022.

O'Donnell, A. G., Young, I. M., Rushton, S. P., Shirley, M. D., e Crawford, J. W.. (2007). Visualization, modelling and prediction in soil microbiology. *Nature Reviews Microbiology*, v. 5, n. 9, p. 689-699.

Oliveira, J., Lourenço, F., Feitosa, D., Ceresini, P., Maltoni, K., & Cassiolato, A. (2024) Bioprospecção de bactérias solubilizadoras de fosfato em solos com diferentes fertilidades.

Pankiewicz, V. C. S., Amaral, F. P. do, Ané, J.-M., e Stacey, G. (2021). Diazotrophic Bacteria and Their Mechanisms to Interact and Benefit Cereals. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, Published Online: 31 Mar 2021.

Paul, E. A. (2007). Soil microbiology, ecology, and biochemistry in perspective. In: *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Academic Press, p. 3-24.

Paulo, E. M., Vasconcelos, M. P., Oliveira, I. S., Affe, H. M. J., Nascimento, R., Melo, I. S., Roque, M. R. A. e Assis, S. A. An Alternative Method for Screening Lactic Acid Bacteria for the Production of Exopolysaccharides with Rapid Confirmation. *Food Science and Technology*, vol. 32, no. 4, 23 Aug. 2012, pp. 710–714, www.scielo.br/j/cta/a/yWpbm9hYktSdKffj3pDMYNp/, <https://doi.org/10.1590/s0101-20612012005000094>. Acesso: 21 Junho 2024.

Pereira, M. C. A., de Araujo, D. S. D., e Pereira, O. J. (2001) Estrutura de Uma Comunidade Arbustiva Da Restinga de Barra de Maricá - RJ. *Revista Brasileira de Botânica*, vol. 24, no. 3. www.scielo.br/j/rbb/a/TqBKDFSGjFN7HMtxBL48LKD/, <https://doi.org/10.1590/s0100-84042001000300005>. Acesso: 13 June 2024.

Pescador, R. Efeito Do Ácido 5,6-Metilenodioxindol-3-Il-Formaldeído (3-MIF) No Sistema de Cultivo in Vitro de Nicotiana Tabacum L. *Revista Brasileira de Biociências*, 18 Jan. 2008, www.academia.edu/97513820/Efeito_do_%C3%A1cido_5_6_metilenodioxindol_3_il_formalde%C3%ADdo_3_MIF_no_sistema_de_cultivo_in_vitro_de_Nicotiana_tabacum_L. Acesso: 14 Junho 2024.

Rezende, C. C., Silva, M. A., Frasca, L. L. de M., Faria, D. R., Filippi, M. C. C. de, Lanna, A. C., e Nascente, A. S. (2021). Microrganismos Multifuncionais: Utilização Na Agricultura. *Embrapa.br* www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1136809, <https://doi.org/2525-3409>. Acesso: 14 Junho 2024.

- Richardson, A. E. (2001). Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology*, v. 28, n. 9, p. 897-906.
- Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., e Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and soil*, v. 287, n. 1, p. 15-21.
- Sacramento, A., Zickel, C., & Almeida, E. (2007) Aspectos florísticos da vegetação de restinga no litoral de Pernambuco.
- Scarano, F. R., Duarte, H. M., Franco, A. C., Geßler, A., de Mattos, E. A., Nahm, M., Rennenberg, H., Zaluar, H. L. T., & Lütge, U. (2005). Ecophysiology of selected tree species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE Brazil I. Performance of three different species of Clusia in an array of plant communities. *Trees*, 19(5), 497–509.
- Silva, C. F. da, Pereira, G. H. A., Pereira, M. G., & Silva, A. N. da. (2013). Fauna edáfica em área periodicamente inundável na restinga da Marambaia, RJ. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37(3), 587–595.
- Silva, T. C. L. (2023) Condição morfodinâmica e geomorfologia do Campo de Dunas do Baixo São Francisco no estado de Alagoas", Ufal.br. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/handle/123456789/10813>. Acesso: 8 julho 2024.
- Simões, S., Zappi, D e Aona, L. (2020). The Cactaceae in the Parque Nacional de Boa Nova, Bahia State, Brazil. *Hoehnea* 47: e1102019. <http://dx.doi.org/10.1590/2236-8906-110/2019>.
- Torsvik, V.; Øvreas, L. (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current opinion in microbiology*, v. 5, n. 3, p. 240-245.
- Tsavkelova, E. A., Klimova, S. Yu., Cherdynseva, T. A. e Netrusov, A. I. (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Applied biochemistry and microbiology*, v. 42, n. 2, p. 117-126.
- Vishwakarma, K., Mishra, M., Jain, S., Singh, J., Upadhyay, N., Verma, R. K., Verma, P., Tripathi, D. K., Kumar, V., Mishra, R., & Sharma, S. (2017). Exploring the role of plant-microbe interactions in improving soil structure and function through root exudation: a key to sustainable agriculture. In D. P. Singh, H. B. Singh, & R. Prabha (Eds.), *Plant-microbe interactions in agro-ecological perspectives* (pp. 467-487). Singapore: Springer.
- Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., e Skz, A. (2016) Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 184, 13-24.
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M. H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W., Mumtaz, S., Yasin, G., Muresan, C. C. e Marc, R. A.. Plants' Physio-Biochemical and Phyto-Hormonal Responses to Alleviate the Adverse Effects of Drought Stress: A Comprehensive Review. *Plants*, vol. 11, no. 13, 21 June 2022, pp. 1620–1620, www.mdpi.com/2223-7747/11/13/1620, <https://doi.org/10.3390/plants11131620>. Acesso: 14 June 2024.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2), 697–703.
- Zaidi, A., Khan, M. S., Ahemad, M. e Oves, M. (2009). Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, v. 56, n. 3, p. 263-284.
- Zamith, L. R. e Scarano, F. R. Restoration of a Restinga Sandy Coastal Plain in Brazil: Survival and Growth of Planted Woody Species. *Restoration Ecology*, vol. 14, no. 1, Mar. 2006, pp. 87–94, www2.ib.unicamp.br/profs/cjoly/CAMPO%2008/GRUPOS%2007/Zamith_Scarano.pdf.
- Zappi, D, e Taylor, Nigel. (2017). Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Cactaceae. *Rodriguésia* 68, n.3 (Especial): 925-929. 2017 <http://rodriguesia.jbrj.gov.br> DOI: 10.1590/2175-7860201768325

Zhao, A., Ding, X., Huang, M. e Cheng, Y. Bioprospecting Plant-Growth-Promoting Endophytic Bacteria Isolated from Moso Bamboo (*Phyllostachys Edulis*) Shoots. *Forests*, vol. 14, no. 10, 16 Oct. 2023, pp. 2061–2061, www.mdpi.com/1999