



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**PROSPECÇÃO DE ISOLADOS MICROBIANOS DE
AMBIENTES HIPERSALINOS PARA REDUÇÃO DO
ESTRESSE HÍDRICO EM MILHO (*Zea mays* L.)**

LUCAS HENRIQUE DA SILVA AMANCIO

2025



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

LUCAS HENRIQUE DA SILVA AMANCIO

**PROSPECÇÃO DE ISOLADOS MICROBIANOS DE AMBIENTES HIPERSALINOS
PARA REDUÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO EM MILHO (*Zea mays* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientador
Prof. Dr. Marcelo Ferreira Fernandes

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2025

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

A484p Amancio, Lucas Henrique da Silva.
Prospecção de isolados microbianos de ambientes hipersalinos para redução do estresse hídrico em milho (*Zea mays* L.) / Lucas Henrique da Silva Amancio; orientador Marcelo Ferreira Fernandes. – São Cristóvão, SE, 2025.
48 f.: il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, 2025.

1. Agrobiodiversidade. 2. Milho. 3. Metabolismo microbiano. 4. Estresse (Fisiologia). 5. Solos – Salinidade. 6. Prospecção. 7. Halófitas. I. . II. Fernandes, Marcelo Ferreira, orient. III. Título.

CDU 633.15

LUCAS HENRIQUE DA SILVA AMANCIO

**PROSPECÇÃO DE ISOLADOS MICROBIANOS DE AMBIENTES HIPERSALINOS
PARA REDUÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO EM MILHO (*Zea mays* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 30 de junho de 2025.

Dr. Lucas Dantas Lopes
(Emdagro)

Dr. Ronaldo Souza Resende
(Embrapa)

Dr. Marcelo Ferreira Fernandes
(Orientador/ Embrapa)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*À memória da minha mãe, à minha noiva Izabel e
a todos do Laboratório de Microbiologia do Solo
da Embrapa Tabuleiros Costeiros, por todo o
amor, apoio e incentivo ao longo desta jornada.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Com o coração profundamente grato e emocionado, encerro esta etapa da minha vida com a certeza de que o caminho percorrido, embora repleto de desafios, foi também marcado por aprendizado, crescimento e superação.

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder força, sabedoria e perseverança ao longo desta caminhada. Sem a fé e o amparo divino, não teria sido possível enfrentar as inúmeras dificuldades que surgiram durante o percurso.

À minha mãe, dedico um agradecimento eterno. Seu amor incondicional, seu exemplo de coragem e sua presença, mesmo após o seu falecimento no início deste ano, foram luz nos momentos mais escuros. Este trabalho carrega, em cada linha, a herança da sua dedicação e do seu cuidado. À minha noiva, Izabel, expresse minha mais sincera gratidão por sua paciência, compreensão e encorajamento constantes. Seu apoio foi essencial para que eu seguisse em frente, mesmo nos momentos em que tudo parecia desmoronar.

Sou profundamente grato ao meu orientador, Marcelo Ferreira Fernandes, pela orientação comprometida, pela confiança no meu potencial e pela atenção dedicada ao desenvolvimento deste projeto. Agradeço também a Robinson e Brenda, que estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis do trabalho, sempre com apoio humano. A Ronaldo e Túlio, minha gratidão pela dedicação e suporte incansáveis na condução dos experimentos na casa de vegetação — especialmente nos momentos cruciais. Agradeço, ainda, a todos os estudantes de iniciação científica que colaboraram ativamente nas diferentes etapas deste trabalho; sem o esforço conjunto, nada disso teria sido possível.

Estendo meus agradecimentos à equipe da Coordenadoria de Defesa Vegetal da Embrapa, registro meu reconhecimento pelas permissões e pelo apoio institucional que possibilitaram a minha participação plena no mestrado, mesmo diante de uma rotina de trabalho exigente.

Por fim, agradeço, com sincera emoção, a todos que, de alguma forma, fizeram parte destes dois anos e quatro meses de jornada. Cada palavra de incentivo, cada gesto de solidariedade e cada demonstração de apoio foram fundamentais para que eu não desistisse.

Concluir este mestrado, apesar de todos os obstáculos enfrentados, é motivo de imensa alegria e realização. Levo comigo não apenas o título, mas a certeza de que fui moldado pelas lutas e pelos vínculos que construí nesse percurso.

BIOGRAFIA

Lucas Henrique da Silva Amancio é Engenheiro Agrônomo formado pela Universidade Federal de Sergipe (UFS) em 2021, onde participou de projetos de iniciação científica nas áreas de fitopatologia, melhoramento genético e tecnologia de sementes, além de atuar em projeto de extensão voltado ao manejo parasitário de onívoros. Em 2022, concluiu a especialização em Agropecuária Sustentável pela mesma universidade, com formação de caráter prático, desenvolvida em uma empresa de consultoria ambiental, o que ampliou sua experiência e conhecimentos em legislação ambiental e florestal.

Desde 2023, é discente do Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade da UFS, onde desenvolve sua pesquisa de mestrado sobre o potencial de microrganismos oriundos de ambientes hipersalinos na mitigação dos efeitos do estresse hídrico em milho (*Zea mays* L.). Seu trabalho envolve a seleção e caracterização de isolados microbianos com potencial uso como bioinoculantes para promoção da tolerância das plantas ao déficit hídrico.

Em 2024, ingressou como servidor público na Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (Emdagro), exercendo o cargo de Engenheiro Agrônomo na função de fiscal agropecuário, lotado na Coordenadoria de Defesa Vegetal. Nessa função, atua na fiscalização de mudas, monitoramento fitossanitário, controle de pragas quarentenárias e promoção da sanidade vegetal no estado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
4. ARTIGO 1: PROSPECÇÃO DE ISOLADOS MICROBIANOS DE AMBIENTES HIPERSALINOS PARA REDUÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO EM MILHO (<i>Zea mays</i> L.)	15
RESUMO	15
4.1. Introdução	15
4.2. Material e Métodos	16
4.3. Resultados	21
4.4. Discussão	28
4.5. Conclusões	30
4.6. Referências Bibliográficas	31
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
ANEXOS	35

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura		Página
1	Teor de umidade do solo (θ_v), em relação às suas condições de capacidade de campo (CC) e ponto de murchamento permanente (PMP), ao longo do período experimental de imposição de déficit hídrico às plantas e posterior reumidificação, em função dos dias após a germinação (DAG).....	18
2	Planos da ordenação multivariada por NMS descritos pelos eixos 1×2 (A) e 1×3 (B), contendo a distribuição dos tratamentos de inoculação com isolados microbianos (Tx) e dos controles CI (controle irrigado) e C0 (controle com restrição hídrica temporária), durante o ciclo de crescimento do milho. Entre parênteses, ao lado dos títulos dos eixos, está indicada a porcentagem da variância explicada por cada componente da ordenação. Os pontos representam os centroides (médias multivariadas) dos tratamentos previamente selecionados pelo teste MRPP bloqueado ($p < 0,15$), e as barras de erro horizontais e verticais indicam ± 1 desvio padrão das três repetições de cada tratamento ao longo dos respectivos eixos da ordenação (Eixo 1 vs. Eixo 2 em A, Eixo 1 vs. Eixo 3 em B). O plano definido pelos Eixos 2 e 3 não foi incluído por representar menor variabilidade e apresentar distribuição redundante em relação aos padrões já evidenciados nos planos com o Eixo 1	26
3	Indicadores bioquímicos e morfofisiológicos avaliados em uma subamostra de 12 tratamentos inoculados com desempenho superior em altura média, além dos controles C0 (controle com restrição hídrica temporária) e CI (controle irrigado), sete dias após reidratação: teor foliar de clorofila A (A), conteúdo de prolina nas folhas (B), razão entre a massa seca da parte aérea e de raízes (C) e massa seca de raízes (D). Os pontos representam a média de três blocos, e as barras de erro indicam o desvio padrão. Significância estatística em comparação ao controle C0: **, significativo a 1% ($p < 0,01$); *, significativo a 5% ($p < 0,05$); °, marginalmente significativo ($0,05 < p < 0,15$).....	27

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela		Página
1	Identificação molecular dos microrganismos bacterianos e fúngicos isolados de ambientes hipersalinos	21
2	Resultados do teste de Dunnett para comparação dos tratamentos com C0 e CI quanto à MSPA, CRA e IVS, em plantas de milho submetidas à restrição hídrica e à posterior reposição da irrigação	22
3	Resultados do teste de Dunnett para comparação dos tratamentos com C0 e CI quanto às taxas relativas de variação em SPAD, altura e temperatura foliar durante os períodos de estresse hídrico e de reposição hídrica em plantas de milho	23
4	Resultados do teste MRPP comparando os tratamentos inoculados e CI em relação ao C0	25
5	Coefficientes de correlação entre as variáveis selecionadas representadas pelos escores das amostras ao longo dos Eixos 1, 2 e 3 da NMS	26

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABA	Ácido abscísico
APX	Ascorbato peroxidase
C0	Controle com restrição hídrica temporária
CI	Controle irrigado
CAT	Catalase
CRA	Conteúdo relativo de água
DAG	Dias após germinação
DO ₆₀₀	Densidade Óptica a 600 nm
EPA	Environmental Protection Agency
FIFRA	Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act
IVS	Índice visual de seca
MRPP	Multi-Response Permutation Procedure
MSPA	Massa seca da parte aérea
MSR	Massa seca de raiz
NMS	Non-metric Multidimensional Scaling
PGPR	Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
SOD	Superóxido dismutase
SPAD	Soil Plant Analysis Development
SST	Sólidos solúveis totais
VAlt DHa	Taxa de variação em altura sob déficit hídrico avançado
VAlt DHi	Taxa de variação em altura sob déficit hídrico inicial
VAlt RP	Taxa de variação em altura sob reposição da irrigação
VSPAD DH	Taxa de variação de SPAD sob déficit hídrico
VSPAD RP	Taxa de variação de SPAD sob reposição da irrigação
VTemp DH	Taxa de variação de temperatura foliar sob déficit hídrico

RESUMO

AMANCIO, Lucas Henrique da Silva. **Prospecção de isolados microbianos de ambientes hipersalinos para redução do estresse hídrico em milho (*Zea mays* L.)**. São Cristóvão: UFS, 2025. 48 p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

Ambientes hipersalinos, como apicuns e salinas, abrigam comunidades microbianas altamente especializadas, adaptadas ao crescimento sob condições extremas de salinidade. Devido à similaridade fisiológica entre os efeitos da alta salinidade e do déficit hídrico, ambos caracterizados por reduzido potencial osmótico, esses microrganismos apresentam potencial biotecnológico para promover tolerância das plantas ao estresse hídrico em sistemas agrícolas. Este trabalho teve como objetivo isolar, identificar e avaliar o potencial de microrganismos provenientes da rizosfera de plantas halófitas de apicuns e salinas na promoção da tolerância à seca em plantas de milho (*Zea mays* L.). Os isolados bacterianos e fúngicos foram obtidos por meio de culturômica, utilizando múltiplos meios de cultivo com diferentes concentrações de NaCl (4 a 25%) e temperaturas de incubação, com posterior identificação molecular, caracterização quanto ao potencial de promoção de tolerância a seca em milho e conservação. A fase experimental foi conduzida em casa-de-vegetação com milho da cultivar Morgan 20A55, sob irrigação controlada em vasos com solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo. As plantas foram submetidas a um regime de irrigação plena nas primeiras cinco semanas e, posteriormente, a um período de estresse hídrico de 14 dias, seguido de retorno da irrigação aos níveis de atendimento pleno da demanda hídrica das plantas. Foram avaliadas variáveis biométricas (altura de planta e massa seca da parte aérea), fisiológicas (temperatura foliar e teor relativo de clorofila, estimado por SPAD) e metabólicas (acúmulo de prolina nas folhas), além de um índice visual de seca. A análise estatística foi realizada com base em contrastes com os controles irrigado e não irrigado e por meio de ordenação multivariada não métrica (NMS), permitindo a observação da distribuição dos tratamentos segundo a resposta conjunta das variáveis. Os resultados indicaram que alguns isolados promoveram melhorias significativas no crescimento e fisiologia das plantas sob estresse, incluindo maior acúmulo de biomassa, teores mais elevados de clorofila e prolina e menores sinais visuais de seca. A análise multivariada confirmou esses efeitos, evidenciando associação entre determinados tratamentos e eixos relacionados à regulação térmica e manutenção da hidratação foliar.

Palavras-chave: Rizosfera, Bacillaceae, *Halobacillus*, *Modicisalibacter*, bioinoculante.

* Comitê Orientador: Marcelo Ferreira Fernandes – EMBRAPA/UFS.

ABSTRACT

AMANCIO, Lucas Henrique da Silva Amancio. **Prospection of microbial isolates from hypersaline environments for mitigating drought stress in maize (*Zea mays* L.)**. São Cristóvão: UFS, 2025. 48 p. (Master of Science in Agriculture and Biodiversity).*

Hypersaline environments, such as *apicuns* (supratidal flats) and salt flats, harbor highly specialized microbial communities adapted to growth under extreme salinity conditions. Due to the physiological similarity between high salinity and drought stress—both characterized by reduced osmotic potential—these microorganisms present biotechnological potential to enhance plant tolerance to water deficit in agricultural systems. This study aimed to isolate, identify, and evaluate the potential of microorganisms from the rhizosphere of halophytic plants inhabiting *apicuns* and salt flats to confer drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). Bacterial and fungal isolates were obtained through culturomic approaches, using multiple culture media with varying NaCl concentrations (4 to 25%) and incubation temperatures, followed by molecular identification, characterization of their ability to promote drought tolerance in maize, and preservation. The experimental phase was conducted in a greenhouse using the maize hybrid Morgan 20A55, grown under controlled irrigation conditions in pots containing a Red-Yellow Argisol (Brazilian Soil Classification System). Plants were irrigated daily during the first five weeks and then subjected to a 14-day drought stress period, followed by rehydration at levels sufficient to meet the plants' full water demand. Biometric variables (plant height and shoot dry mass), physiological parameters (leaf temperature and relative chlorophyll content measured via SPAD index), and metabolic responses (leaf proline accumulation) were assessed, in addition to a visual drought index. Statistical analyses were performed using contrasts with irrigated and non-irrigated controls, along with non-metric multidimensional scaling (NMS) to evaluate treatment distribution based on the joint response of the measured variables. The results indicated that certain isolates significantly improved plant growth and physiological performance under drought stress, including higher biomass accumulation, increased chlorophyll and proline content, and reduced visual drought symptoms. Multivariate analyses confirmed these effects, revealing associations between specific treatments and axes related to thermal regulation and maintenance of leaf hydration.

Keywords: Rhizosphere, Bacillaceae, *Halobacillus*, *Modicisalibacter*, bioinoculant.

* Guidance Committee: Marcelo Ferreira Fernandes – EMBRAPA/UFS (Advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

O déficit hídrico e a salinidade do solo são fatores críticos que limitam significativamente a produtividade agrícola, sobretudo em regiões áridas e semiáridas. Esses estresses abióticos impactam diretamente processos fisiológicos e bioquímicos nas plantas, desencadeando alterações no crescimento, na eficiência fotossintética e na produção de biomassa (Farooq *et al.*, 2009; Munns; Tester, 2008). A cultura do milho (*Zea mays* L.), de grande importância socioeconômica no Brasil e no mundo, é particularmente sensível à restrição hídrica e à salinidade, fatores que afetam as fases de germinação, floração e enchimento de grãos, reduzindo drasticamente o potencial produtivo (Farooq *et al.*, 2012).

A salinidade do solo provoca uma redução do potencial osmótico, dificultando a absorção de água pelas raízes e induzindo desequilíbrios nutricionais, além de toxicidade iônica, que afeta o metabolismo e a integridade celular (Gupta; Huang, 2014). A restrição hídrica, por sua vez, leva ao fechamento estomático, à redução da taxa fotossintética e à limitação da expansão celular, comprometendo o crescimento e a produtividade das plantas (Flexas *et al.*, 2013). Embora distintos em origem, esses dois estresses compartilham aspectos fisiológicos comuns, como a indução de respostas associadas ao déficit hídrico devido ao baixo potencial osmótico. Esse paralelismo tem sido explorado como base para o desenvolvimento de estratégias que visem à adaptação das plantas à escassez de água (Zhu, 2016).

Nos últimos anos, tem crescido o interesse pela aplicação de microrganismos benéficos do solo como ferramenta para reduzir os efeitos do estresse hídrico e salino e promover a resiliência das plantas (Kumari *et al.*, 2023). Esses microrganismos, que habitam a rizosfera, atuam por diversos mecanismos complementares: produção de fitohormônios como auxinas e citocininas, solubilização de nutrientes, síntese de enzimas antioxidantes e regulação hormonal (Bouremani *et al.*, 2023; Vurukonda *et al.*, 2016). Essas ações favorecem o crescimento vegetal mesmo sob estresses abióticos, além de aumentar a eficiência de uso da água e nutrientes (Khumairah *et al.*, 2022). Estudos recentes têm demonstrado que microrganismos provenientes de ambientes hipersalinos podem melhorar a germinação, o desenvolvimento radicular e a eficiência fotossintética de culturas como milho, arroz e trigo, mesmo em condições de baixa disponibilidade de água (El-Saadony *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2025).

Nesse contexto, destacam-se os microrganismos isolados de ambientes hipersalinos, como apícuns e salinas desativadas, que se desenvolvem sob condições de salinidade extrema e baixa disponibilidade hídrica. Embora sua adaptação se relacione diretamente à salinidade, os mecanismos fisiológicos e bioquímicos que sustentam sua sobrevivência – como a produção de osmoprotetores, exopolissacarídeos e enzimas reguladoras do equilíbrio hídrico celular – também são relevantes para a promoção da tolerância ao estresse hídrico em plantas (Chen *et al.*, 2024; Verma *et al.*, 2024). Isso se deve à sobreposição funcional entre os efeitos do estresse salino e do déficit hídrico, ambos associados à limitação osmótica (Khumairah *et al.*, 2022). Além disso, podem modular a expressão de genes relacionados ao estresse nas plantas hospedeiras, transferindo parte de sua adaptabilidade para as espécies cultivadas (Zhang; Shi, 2013).

Esses resultados reforçam o potencial desses microrganismos como bioinoculantes promissores, capazes de aumentar a resiliência das plantas e a sustentabilidade dos sistemas agrícolas em regiões vulneráveis. Apesar desse potencial, ainda são escassos os estudos que caracterizam e avaliam esses isolados microbianos em condições de campo, principalmente no contexto das regiões semiáridas do Brasil. Essa lacuna limita o desenvolvimento de bioprodutos eficazes e adaptados às particularidades edafoclimáticas locais (Kumari *et al.*, 2023).

A utilização de microrganismos de ambientes hipersalinos como bioinoculantes representa, portanto, uma estratégia promissora para a agricultura sustentável em áreas sujeitas à escassez hídrica. Esses microrganismos oferecem soluções naturais para fortalecer a resposta das plantas ao déficit hídrico, contribuindo para a estabilidade produtiva em contextos vulneráveis às mudanças climáticas e à degradação dos solos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ambientes hipersalinos e zonas costeiras

Ambientes hipersalinos são ecossistemas caracterizados por concentrações de sais dissolvidos superiores às da água do mar, cuja salinidade média é de aproximadamente 3,5% (Tweedley *et al.*, 2019). Nesses ambientes, a salinidade pode atingir concentrações muitas vezes superiores às encontradas em solos agrícolas ou naturais, impondo condições severamente restritivas à maioria dos organismos. Podem ocorrer tanto em regiões áridas e semiáridas — onde a evaporação intensa supera a reposição hídrica, favorecendo o acúmulo de sais — quanto em áreas litorâneas, como lagunas costeiras e salinas artificiais. Também incluem habitats de origem antrópica, como tanques de evaporação industrial e zonas de descarte de rejeitos (McGenity; Oren, 2012).

A composição química desses ambientes é complexa, envolvendo não apenas cloreto de sódio (NaCl), mas também íons como magnésio (Mg^{2+}), cálcio (Ca^{2+}), potássio (K^+) e sulfato (SO_4^{2-}). A proporção desses componentes varia conforme a origem do sistema — se marinha (thalassohalina) ou continental (athalassohalina) — influenciando diretamente suas propriedades físico-químicas e a estrutura das comunidades microbianas associadas (Oren, 2013; Ventosa; Arahál, 2009). Estudos em ambientes hipersalinos do tipo athalassohalino, como o Lago Tyrrell, na Austrália, demonstram que a composição iônica é determinante para a comunidade microbiana, com *Haloquadratum* spp. prosperando em concentrações elevadas de K^+ , Mg^{2+} e SO_4^{2-} , ao passo que *Halorubrum* e *Salinibacter* são menos favorecidos (Podell *et al.*, 2013). Esses dados reforçam que diferentes tipos e proporções de sais não apenas elevam a salinidade total, mas também atuam como filtros ecológicos sobre as comunidades microbianas.

Além da salinidade elevada, esses ecossistemas são marcados por outras condições ambientais extremas, como intensa radiação UV, amplas variações térmicas diurnas e noturnas e baixa disponibilidade hídrica real — fatores que impõem forte pressão seletiva sobre os organismos presentes. Microrganismos que habitam tais ambientes costumam desenvolver estratégias especializadas de adaptação, como o acúmulo de solutos compatíveis (por exemplo, glicina-betaína e trealose) e sistemas de regulação osmótica altamente eficientes (Ventosa *et al.*, 2015).

Entre os diversos tipos de ambientes hipersalinos, destacam-se os apicuns — formações localizadas nas porções mais elevadas dos manguezais, caracterizadas por elevada salinidade, baixa frequência de inundação e intensa evaporação. Esses microambientes, classificados como talassohalinos, apresentam condições extremas de sal e déficit hídrico, configurando regiões que abrigam comunidades microbianas altamente adaptadas (Albuquerque *et al.*, 2013). Estudos conduzidos na Baía de Todos os Santos (BA) indicam que, durante o período seco, a salinidade superficial do solo nos apicuns pode atingir ou ultrapassar 10 %, com teores elevados de sódio, cálcio, magnésio e condutividade elétrica, além de pH variando de neutro a levemente alcalino, frequentemente acima de 7,5 em áreas mais salinas e desprovidas de vegetação (Hadlich; Celino; Ucha, 2010).

Salinas convencionais, utilizadas para a extração de sal por evaporação solar da água do mar, também constituem ambientes hipersalinos relevantes para a seleção de microrganismos adaptados. Em seus tanques de cristalização final, a salinidade pode atingir cerca de 240 g/L (~240 %), com pH neutro ou levemente alcalino, refletindo a concentração progressiva dos sais marinhos ao longo do processo. Embora artificiais em origem, esses sistemas reproduzem condições ambientais comparáveis às de ambientes naturais hipersalinos, como elevada salinidade, baixa umidade e alta radiação solar.

Tanto os apicuns quanto as salinas convencionais estão sujeitos a ciclos sazonais ou operacionais de inundação e evaporação, que resultam na deposição superficial de sais e na criação de zonas de osmolaridade extrema. Em ambos os casos, observa-se uma dinâmica vertical dos sais dissolvidos — nos apicuns, ao longo do perfil do solo, modulada por chuvas e marés; nas salinas, por variações de densidade e concentração ao longo da coluna de água

durante o processo de concentração e cristalização. Essas condições, aliadas à composição iônica, variabilidade granulométrica e limitações hídricas, tornam esses ambientes altamente seletivos e espacialmente heterogêneos, favorecendo comunidades microbianas adaptadas a múltiplos estresses abióticos (Silva; Silva; Araújo, 2020).

Os microrganismos que habitam esses ambientes possuem adaptações específicas — como a produção de osmoprotetores, exopolissacarídeos e enzimas antioxidantes — que lhes permitem manter atividade metabólica mesmo sob estresse salino e escassez hídrica. Essas comunidades extremófilas vêm sendo cada vez mais estudadas por seu potencial de aplicação em biotecnologia, incluindo o desenvolvimento de bioinoculantes voltados à promoção da tolerância ao déficit hídrico em plantas, especialmente em função da similaridade funcional entre os efeitos da salinidade e da seca sobre o potencial osmótico celular.

2.2 Diversidade microbiana e estratégias adaptativas em ambientes hipersalinos

A diversidade microbiana em ambientes hipersalinos é notável, abrangendo representantes dos três domínios — Archaea, Bacteria e Eukarya — adaptados a extremos de salinidade, temperatura e pH (Gunde-Cimerman; Plemenitaš; Oren, 2018; Ventosa *et al.*, 2015). Nesses ambientes, convivem microrganismos classificados funcionalmente de acordo com sua resposta à presença de sal: os halofílicos, que requerem elevadas concentrações de NaCl para seu crescimento, e os halotolerantes, que toleram amplas faixas de salinidade, mas não dependem do sal para se desenvolver (Oren, 2014; Ventosa; Nieto; Oren, 1998).

Entre os halofílicos, destacam-se arqueias da classe Halobacteria, como *Halobacterium salinarum*, *Halorubrum saccharovororum* e *Haloarcula marismortui*, além de bactérias como *Salinibacter ruber*, todas comumente associadas a salmouras saturadas ou quase saturadas, onde prosperam em concentrações entre 2,5 e 5,2 mol.L⁻¹ de NaCl (Oren, 2013). Também merecem destaque eucariotos como a alga unicelular *Dunaliella salina*, capaz de sobreviver em salinidades próximas à saturação (Hosseini Tafreshi; Shariati, 2009).

Por outro lado, diversas linhagens fúngicas e bacterianas são reconhecidamente halotolerantes. Fungos como *Hortaea werneckii*, *Debaryomyces hansenii* e *Wallemia ichthyophaga* são exemplos bem estabelecidos, com crescimento possível em uma ampla faixa de NaCl, desde ausência de sal até concentrações próximas à saturação (Gostinčar *et al.*, 2010; Plemenitaš *et al.*, 2014). Essa estratégia fisiológica de adaptação a ambientes de alta salinidade também é observada em diversas bactérias, incluindo cianobactérias e linhagens heterotróficas isoladas de ambientes costeiros, solos salinizados e sistemas de evaporação solar (DasSarma; DasSarma, 2012).

Adicionalmente, há registros de arqueias halotolerantes, capazes de crescer em ambientes com salinidade moderada ou até baixa, sem que a presença de sal seja condição essencial para seu metabolismo. Entre essas, destaca-se *Haladaptatus paucihalophilus*, isolada de sedimentos salinos e capaz de se desenvolver em concentrações de NaCl que variam de 0,05 mol.L⁻¹ a 3,4 mol.L⁻¹, sendo um caso clássico de halotolerância (Savage *et al.*, 2007). Outras espécies, como *Halorubrum saccharovororum* e *Natronomonas pharaonis*, também exibem crescimento em faixas salinas amplas, o que reforça a diversidade fisiológica presente entre halobactérias (DasSarma; DasSarma, 2012; Oren, 2013).

Microrganismos halofílicos como *Halobacillus halophilus* mantêm a viabilidade celular por meio de estratégias como a troca ativa de íons com o meio externo e o acúmulo de solutos orgânicos compatíveis — entre os quais se destacam a glicina-betaína, a ectoína e a hidroxietoína —, que estabilizam proteínas e estruturas celulares frente ao estresse osmótico (Saum; Müller, 2008). Além disso, aquaporinas e crioprotetores também contribuem para o controle do fluxo de água e a proteção contra a desidratação.

Alguns microrganismos desenvolveram mecanismos ainda mais especializados, como a presença de halorodopsina — uma bomba de cloreto ativada por luz — que permite a regulação precisa dos níveis intracelulares de íons em arqueias como *Halobacterium salinarum* e *Natronomonas pharaonis*. No domínio eucariótico, a já citada *Dunaliella salina* ajusta seu

conteúdo citoplasmático de glicerol de acordo com a salinidade do ambiente, garantindo o equilíbrio osmótico mesmo sob concentrações quase saturadas de NaCl (Oren, 2020).

As adaptações observadas nesses organismos não se limitam ao metabolismo, estendendo-se também à estrutura de suas proteínas. Estudos indicam que microrganismos halofílicos frequentemente apresentam proteínas com menor conteúdo de resíduos hidrofóbicos e maior proporção de regiões desestruturadas, como enrolamentos aleatórios, em detrimento de hélices α (alfa). Essas características estruturais conferem estabilidade e funcionalidade em soluções salinas concentradas, tornando-se essenciais para a sobrevivência em tais condições (Elcock; McCammon, 1998).

Fungos como *Wallemia ichthyophaga* ilustram outro modelo de adaptação: mesmo sob estresse salino, mantêm baixas concentrações intracelulares de Na^+ graças ao acúmulo de glicerol como principal soluto compatível, com participação adicional de polióis como arabitol e manitol. Essa plasticidade fisiológica reforça a diversidade de mecanismos adaptativos à salinidade entre microrganismos eucarióticos (Zajc *et al.*, 2014).

Essas estratégias bioquímicas e fisiológicas, embora distintas em sua natureza, convergem funcionalmente para o mesmo fim: preservar a integridade celular e assegurar o funcionamento metabólico em ambientes osmoticamente desafiadores — sejam eles naturais ou resultantes da atividade humana. Por essa razão, microrganismos halofílicos e halotolerantes têm despertado interesse crescente na biotecnologia, especialmente em aplicações voltadas à indução de tolerância a estresses abióticos, como a seca, em culturas agrícolas de interesse.

2.3 A rizosfera como ambiente estratégico na agricultura

A rizosfera constitui uma interface altamente especializada entre as raízes das plantas e o solo, caracterizada por uma intensa atividade bioquímica e microbiológica. Trata-se de uma zona em que os exsudatos radiculares — incluindo açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos e sinais químicos — modulam ativamente a composição e o funcionamento da comunidade microbiana local, criando um microambiente distinto do solo adjacente (rizosfera estendida) em termos físico-químicos e biológicos. Esses compostos funcionam como substratos energéticos e sinais de recrutamento, favorecendo microrganismos com capacidades adaptativas ou funcionais relevantes para o desenvolvimento vegetal (Compant; Clément; Sessitsch, 2010).

A composição da microbiota rizosférica varia conforme o genótipo da planta, o estágio de desenvolvimento radicular e as condições edáficas, incluindo grupos com potencial de promoção do crescimento vegetal (PGPR, na sigla em inglês), como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum* e *Rhizobium*. Esses microrganismos contribuem para a nutrição vegetal por mecanismos como fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e potássio, e produção de sideróforos — quelantes de ferro que aumentam sua biodisponibilidade em solos onde esse micronutriente se encontra em formas insolúveis (Ahmad *et al.*, 2022).

Além disso, microrganismos rizosféricos atuam sobre a arquitetura e a fisiologia vegetal por meio da síntese de fitohormônios (como auxinas e citocininas), compostos orgânicos voláteis e enzimas que afetam o alongamento celular e o crescimento de raízes. Em contextos de estresse abiótico, como seca e salinidade, várias dessas linhagens microbianas promovem a expressão de genes associados à resposta antioxidante, à produção de osmoprotetores (como prolina) e ao ajuste fino de rotas hormonais como a do ácido abscísico (ABA), contribuindo para a manutenção do balanço hídrico e funcionalidade celular sob limitação hídrica (Muhammad Aslam *et al.*, 2022).

Avanços recentes em metagenômica, transcriptômica e metabolômica vêm permitindo a caracterização funcional da microbiota rizosférica, com identificação de metabólitos com potencial bioestimulante, incluindo ácidos orgânicos, hormônios, peptídeos sinalizadores e compostos voláteis com atividade sistemicamente induzida (Bonini *et al.*, 2020; Kaya, 2024). Esses compostos estão sendo explorados como ferramentas de manejo biológico capazes de

melhorar a tolerância ao estresse e otimizar o desempenho fisiológico das plantas em sistemas agrícolas.

Nesse contexto, ganham destaque as estratégias de engenharia da rizosfera, que buscam otimizar a composição microbiana por meio de consórcios funcionais, insumos orgânicos e seleção de genótipos vegetais com maior capacidade de recrutamento microbiano. Além disso, o uso de ferramentas de biologia molecular e modelagem preditiva tem viabilizado a análise de interações microbianas complexas, abrindo caminho para intervenções mais precisas e contextualmente ajustadas aos diferentes sistemas produtivos (Lopatkin; Collins, 2020; Saad *et al.*, 2020).

A rizosfera, portanto, não apenas constitui um ambiente ecológico altamente especializado, mas também representa uma fronteira estratégica para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis voltadas à promoção do crescimento vegetal e à mitigação dos efeitos do estresse hídrico em condições agrícolas adversas.

2.4 Estresse hídrico em plantas: causas e efeitos fisiológicos

O estresse hídrico surge quando a demanda por água excede a oferta do solo, levando ao fechamento estomático como tentativa de conservar água. Essa reação, contudo, também restringe a entrada de CO₂ e diminui a capacidade fotossintética, afetando a produção de biomassa de forma significativa. Esse desequilíbrio hídrico pode comprometer ainda a absorção de nutrientes essenciais, resultando em menor vigor vegetativo e redução do rendimento das culturas, especialmente em regiões sujeitas à seca prolongada.

Simultaneamente, o estresse hídrico promove acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), que danificam proteínas, lipídios e estruturas genéticas, comprometendo funções metabólicas vitais. A ativação de enzimas antioxidantes (SOD, APX, CAT) é essencial para proteger as células e garantir a adaptação ao ambiente desfavorável, além de contribuir para a manutenção da integridade celular e da atividade fotossintética. Esse sistema antioxidante atua como primeira linha de defesa contra danos oxidativos, possibilitando que as plantas desenvolvam maior tolerância e resiliência ao déficit hídrico prolongado (Rao *et al.*, 2025).

Além disso, a síntese de osmoprotetores como prolina, glicina-betaína e trealose protege a homeostase celular, ajustando o potencial osmótico e mantendo a integridade estrutural sob déficit hídrico (Hossain *et al.*, 2021). Prolina também atua como quelante de ROS, oferecendo proteção adicional (Kahraman; Sevim; Bor, 2019). Esses compostos não só estabilizam proteínas e membranas, mas também participam na regulação da sinalização celular, desempenhando papel elementar no ajustamento metabólico e na adaptação de plantas a condições de estresse prolongado e severo.

Outro impacto do estresse hídrico é a redução da expansão e da divisão celular, o que se traduz em crescimento limitado e menor eficiência no uso da água. Em cultivares sensíveis, esse fenômeno prejudica diretamente o desenvolvimento reprodutivo, com queda da produtividade. Além disso, a limitação no crescimento celular e no alongamento de tecidos pode afetar a formação de órgãos essenciais, como flores e frutos, comprometendo o sucesso reprodutivo e a capacidade de resposta das plantas a estresses adicionais em ambientes agrícolas (Bhattacharya, 2021).

Para lidar com esse desafio, estratégias integradas podem ser consideradas, como o uso de variedades mais tolerantes ao déficit hídrico, ajustes no manejo da irrigação e a bioinoculação com microrganismos associados à indução de resistência (Maitra *et al.*, 2021). Além disso, práticas de conservação do solo e a aplicação de materiais que retêm água no solo, como polímeros, têm sido exploradas para melhorar a disponibilidade hídrica e manter a umidade por mais tempo, fatores que influenciam diretamente o crescimento e o desenvolvimento das culturas (Ashraf; Ragavan; Begam, 2021; Patra *et al.*, 2022).

2.5 Microrganismos na mitigação do estresse hídrico

Microrganismos rizosféricos promotores de crescimento (PGPRs), como as bactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, interferem positivamente na resiliência das plantas, estimulando vias que mantêm pressão de turgescência sob estresse hídrico (Marques *et al.*, 2023; Nishu; No; Lee, 2022). Eles secretam fitohormônios como auxinas e citocininas, promovendo crescimento radicular e aumentando a absorção de água. Além disso, muitas dessas cepas expressam a enzima ACC-desaminase, que reduz os níveis de etileno — hormônio que, em excesso, dificulta o crescimento em situações de estresse. Isso permite uma maior absorção de nutrientes e um desenvolvimento mais robusto (Chandra; Srivastava; Sharma, 2018).

Fungos micorrízicos, como *Glomus intraradices* e *Rhizophagus irregularis*, ampliam a área de absorção hídrica por meio de suas hifas, aumentando a resistência ao déficit hídrico e facilitando o acesso a fósforo e outros nutrientes pouco disponíveis (Ceballos *et al.*, 2013; Stockinger; Walker; Schüßler, 2009). O uso de consórcios microbianos que combinam bactérias com fungos micorrízicos tem se mostrado mais efetivo do que aplicações únicas, gerando efeitos sinérgicos que incluem maior biomassa vegetal, melhor arquitetura radicular e respostas fisiológicas aprimoradas (Santoyo *et al.*, 2021). Esse conhecimento tem sido aproveitado na agricultura de precisão, com a introdução de bioinoculantes específicos em práticas de manejo agrícola adaptadas a diferentes regiões e sistemas produtivos, reduzindo as perdas durante períodos prolongados de seca (Mikiciuk *et al.*, 2024).

Estudos de campo têm mostrado que a aplicação de bactérias como algumas linhagens de *Azotobacter*, oriundas inclusive de ambientes de escassez hídrica, contribuem significativamente para melhorar a tolerância das plantas ao estresse hídrico e, conseqüentemente, aumentar a produtividade agrícola. Esses microrganismos, adaptados a condições extremas, transferem parte de sua plasticidade fisiológica às plantas associadas, oferecendo uma estratégia prática e de baixo custo para agricultores de regiões semiáridas, marcadas por solos salinos e escassez de água (Shirinbayan; Khosravi; Malakouti, 2019).

Além dos efeitos diretos sobre o crescimento e a absorção de água, diversos microrganismos rizosféricos também influenciam a regulação hormonal das plantas através de interações moleculares e sinalização cruzada. Espécies de *Bacillus*, *Enterobacter* e *Paenibacillus*, por exemplo, alteram os níveis de hormônios como ABA, auxina e citocininas, modulando o equilíbrio hidrológico e mantendo a fotossíntese ativa durante períodos de déficit hídrico. Essa ação ocorre por meio da secreção microbiana de hormônios ou da indução da biossíntese endógena pelas plantas, resultando num fechamento estomático mais controlado e uma resposta antioxidante mais eficaz (Riseh *et al.*, 2021).

Além disso, estudos recentes têm demonstrado que certos microrganismos conseguem causar modificações epigenéticas nas plantas hospedadas, como metilação de DNA e alterações em histonas, promovendo uma “memória” do estresse que melhora a resposta em ciclos futuros. Por exemplo, inoculações com *Trichoderma harzianum* T22 e *Pseudomonas putida* já mostraram induzir mudanças epigenômicas em culturas como tomate e cevada, aumentando a tolerância à seca (De Palma *et al.*, 2019; Pillai; Swarup, 2002). Esse tipo de reprogramação molecular representa um campo promissor que une microbiologia e epigenética vegetal.

2.6 Avanços e perspectivas na aplicação de bioinsumos

Bioinsumos agrícolas baseados em microrganismos — como *Bacillus*, *Trichoderma* e fungos micorrízicos — vêm se consolidando como alternativas eficazes aos agentes químicos, corroborando práticas sustentáveis e garantindo altas produtividades. Revisões recentes evidenciam que a combinação de *Trichoderma* e bactérias como *Bacillus* promove efeitos sinérgicos, melhorando a germinação, o crescimento radicular e o rendimento, especialmente sob condições de déficit hídrico ou salinidade. Além disso, *Trichoderma* tem sido amplamente aplicada para manejo integrado, reduzindo patógenos do solo e minimizando a dependência de fungicidas sintéticos (Yao *et al.*, 2023). Estudos em hortaliças e grãos demonstraram ganhos de

produtividade entre 20% e 40%, reforçando seu potencial como tecnologia promissora para agricultura sustentável (Aziz; Hussein; Kadhim, 2025).

Ensaio em campo têm demonstrado que esses bioinsumos não apenas otimizam a nutrição e aumentam a tolerância ao estresse, mas também suprimem patógenos e promovem a qualidade do solo, fortalecendo sua estrutura física, atividade enzimática e fertilidade, com efeitos cumulativos benéficos a médio e longo prazo (Pei *et al.*, 2025; Vincze *et al.*, 2024).

O uso de comunidades sintéticas (SynComs) compostas por microrganismos complementares tem ganhado destaque como estratégia promissora para a agricultura sustentável. Essa abordagem permite superar limitações de competitividade ecológica entre os microrganismos isolados, proporcionando um suporte funcional mais robusto, estável e eficaz às plantas. Além disso, apresenta maior previsibilidade de desempenho em campo e pode ser desenhada de acordo com necessidades específicas da cultura e do ambiente (Xu *et al.*, 2025).

Desafios ainda existem, como garantir a sobrevivência dos bioinsumos no campo, desenvolver formulações robustas (carregadores e veículos adequados) e integrá-los com práticas agrícolas convencionais. Entretanto, inovações em técnicas de encapsulação (como alginato e carragenana), uso de microcápsulas poliméricas e formulações líquidas estão acelerando a adoção, pois protegem os microrganismos contra o estresse ambiental, prolongam sua viabilidade e permitem liberação controlada junto às raízes, aumentando a consistência dos efeitos no campo (Vassilev *et al.*, 2020).

A trajetória regulatória também está evoluindo. Países como Brasil, Europa e EUA estruturam normas para escalar o uso de bioinsumos agrícolas. No Brasil, a Lei dos Bioinsumos nº 15.070/2024 e o Decreto Federal nº 10.375/2020 permitiram o registro simplificado e a produção “on-farm”, fortalecendo parcerias entre pesquisa, extensão e produtores (BRASIL, 2020; BRASIL, 2024). Na União Europeia, a aprovação de substâncias ativas segue o Regulamento 1107/2009, com discussões recentes sobre rotas mais ágeis para produtos de baixo risco (Villaverde *et al.*, 2014). Nos Estados Unidos, a Agência de Proteção Ambiental (Environmental Protection Agency – EPA) regula os bioprotetores por meio da Lei Federal de Inseticidas, Fungicidas e Rodenticidas (Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act – FIFRA), com processos que envolvem testes rigorosos e avaliação de risco, mas que também oferecem suporte regulatório para insumos considerados de baixo risco (Kuzma *et al.*, 2023). Essas mudanças regulatórias ampliam o acesso dos agricultores a soluções microbianas e estimulam a inovação em escala global.

2.7 Potencial biotecnológico de microrganismos halotolerantes e halofílicos

Sob a ótica biotecnológica, os ambientes hipersalinos são de grande relevância, pois abrigam microrganismos que possuem características únicas, como a produção de enzimas resistentes a altas concentrações de sal, temperatura e pH extremos. Essas propriedades tornam esses organismos ideais para aplicações industriais, como na produção de detergentes, conservantes alimentícios, biocombustíveis, medicamentos e para fins agrícolas. Além disso, os metabólitos produzidos por esses microrganismos têm grande potencial para inovação em diversas áreas da biotecnologia (Dutta; Bandopadhyay, 2022).

Microrganismos halofílicos apresentam grande potencial na produção de biocombustíveis por meio da fermentação de açúcares em ambientes hipersalinos. Espécies como *Nesterenkonia* sp. e *Clostridium halophilum* estão envolvidas na síntese de butanol, acetona e etanol em condições aeróbicas e anaeróbicas (Amiri *et al.*, 2016; Fendrich; Hippe; Gottschalk, 1990). Além disso, cepas de *Haloarcula* produzem enzimas como lipase e celulase, utilizadas na fabricação de biodiesel (Li; Yu, 2013). A suplementação com compostos como ectoína pode ainda elevar a produção de etanol (Zhang *et al.*, 2008). Consórcios bacterianos halotolerantes têm sido capazes de degradar material lignocelulósico, promovendo a conversão eficiente em bioetanol, o que reforça o papel dos halófilos em alternativas energéticas sustentáveis (Cortes-Tolalpa *et al.*, 2018).

Bactérias e arqueias halofílicas também se destacam na biorremediação de metais pesados, por meio da síntese de nanopartículas biogênicas (Srivastava *et al.*, 2015). Mecanismos como precipitação intra e extracelular, sistemas de efluxo e desintoxicação enzimática conferem resistência a essas espécies frente à contaminação por metais. Além disso, essas arqueias produzem peptídeos antimicrobianos conhecidos como halocinas e bacteriocinas, com amplo espectro de ação contra bactérias resistentes a antibióticos, leveduras e até mamíferos, abrindo novas possibilidades no campo da biomedicina (Diba *et al.*, 2021).

Os halófilos têm papel relevante na gestão de resíduos, principalmente na biodegradação de hidrocarbonetos e plásticos em ambientes salinos. Gêneros como *Marinobacter*, *Alcanivorax*, *Burkholderia*, *Pandoraea* e *Enterobacter* conseguem metabolizar compostos tóxicos como benzeno, etilbenzeno e n-alcanos, convertendo-os em dióxido de carbono (Margesin; Moertelmaier; Mair, 2013). Essa capacidade é útil em processos industriais de tratamento biológico de águas residuais salinas, contribuindo para a sustentabilidade ambiental e para o reaproveitamento de áreas contaminadas.

Na agricultura, bactérias halófilas e halotolerantes promotoras de crescimento vegetal (PGPR) vêm sendo aplicadas como bioinoculantes para atenuar o estresse salino. Gêneros como *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Halomonas*, *Azospirillum* e *Klebsiella* auxiliam as plantas por meio da produção de fitohormônios, degradação de espécies reativas de oxigênio e promoção da absorção de nutrientes. Essas bactérias sintetizam compostos como ACC-desaminase, sideróforos e HCN, que favorecem o desenvolvimento vegetal mesmo sob condições adversas. Resultados positivos já foram observados em cultivos de tomate, trigo, alface e soja, demonstrando o potencial dessas abordagens para uma agricultura mais resiliente e sustentável (Egamberdieva; Kucharova, 2009; Orhan, 2016).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, H. M. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria eliminate the effect of drought stress in plants: a review. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 875774, 2022.

ALBUQUERQUE, A. G. B. M. *et al.* Hypersaline tidal flats (apicum ecosystems): the weak link in the tropical wetlands chain. **Environmental Reviews**, v. 22, n. 2, p. 99–109, 2013.

AMIRI, H. *et al.* *Nesterenkonia* sp. strain F, a halophilic bacterium producing acetone, butanol, and ethanol under aerobic conditions. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1–10, 2016.

ASHRAF, A. M.; RAGAVAN, T.; BEGAM, S. N. Superabsorbent polymers (SAPs) hydrogel: water saving technology for increasing agriculture productivity in drought prone areas: a review. **Agricultural Reviews**, v. 42, n. 2, 2021.

AZIZ, Z. N.; HUSSEIN, A. G.; KADHIM, Z. J. Effect of biofertilizers (Mycorrhizal fungi, *Trichoderma*, *Bacillus subtilis* bacteria) and seaweed extracts on the growth and yield of mint (*Mentha spicata*): an integrative study of vegetative growth and secondary compounds. **International Journal of Advanced Biochemistry Research**, v. 9, n. 5, p. 100–106, 2025.

BHATTACHARYA, A. Effect of soil water deficit on growth and development of plants: a review. *In: Soil Water Deficit and Physiological Issues in Plants*, p. 393–488, 2021.

BONINI, P. *et al.* A microbial-based biostimulant enhances sweet pepper performance by metabolic reprogramming of phytohormone profile and secondary metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 567388, 2020.

BOUREMANI, N. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): a rampart against the adverse effects of drought stress. **Water**, v. 15, n. 3, p. 418, 2023.

BRASIL. Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, DF, 2020.

BRASIL. Lei nº 15.070, de 6 de maio de 2024. Institui a Política Nacional de Bioinsumos. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, DF, 2024.

CEBALLOS, I. *et al.* The in vitro mass-produced model mycorrhizal fungus, *Rhizophagus irregularis*, significantly increases yields of the globally important food security crop cassava. **PLOS ONE**, v. 8, n. 8, p. e70633, 2013.

CHANDRA, D.; SRIVASTAVA, R.; SHARMA, A. K. Influence of IAA and ACC deaminase producing fluorescent pseudomonads in alleviating drought stress in wheat (*Triticum aestivum*). **Agricultural Research**, v. 7, n. 3, p. 290–299, 2018.

CHEN, Q. *et al.* Mechanisms and impact of rhizosphere microbial metabolites on crop health, traits, functional components: a comprehensive review. **Molecules**, v. 29, n. 24, p. 5922, 2024.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669–678, 2010.

- CORTES-TOLALPA, L. *et al.* Halotolerant microbial consortia able to degrade highly recalcitrant plant biomass substrate. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 6, p. 2913–2927, 2018.
- DASSARMA, S.; DASSARMA, P. Halophiles. **Encyclopedia of Life Sciences**, 2012.
- DE PALMA, M. *et al.* Transcriptome reprogramming, epigenetic modifications and alternative splicing orchestrate the tomato root response to the beneficial fungus *Trichoderma harzianum*. **Horticulture Research**, v. 6, n. 1, p. 5, 2019.
- DIBA, H. *et al.* Isolation and characterization of halophilic bacteria with the ability of heavy metal bioremediation and nanoparticle synthesis from Khara salt lake in Iran. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 7, p. 3893–3903, 2021.
- DUTTA, B.; BANDOPADHYAY, R. Biotechnological potentials of halophilic microorganisms and their impact on mankind. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 11, n. 1, p. 1–16, 2022.
- EGAMBERDIEVA, D.; KUCHAROVA, Z. Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 45, n. 6, p. 563–571, 2009.
- ELCOCK, A. H.; MCCAMMON, J. A. Electrostatic contributions to the stability of halophilic proteins. **Journal of Molecular Biology**, v. 280, n. 4, p. 731–748, 1998.
- EL-SAADONY, M. T. *et al.* Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria alleviate drought stress and enhance soil health for sustainable agriculture: a comprehensive review. **Plant Stress**, v. 14, p. 100632, 2024.
- FAROOQ, M. *et al.* Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, n. 1, p. 185–212, 2009.
- FAROOQ, M. *et al.* Drought stress in plants: an overview. **Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features**, v. 9783642326530, p. 1–33, 2012.
- FENDRICH, C.; HIPPE, H.; GOTTSCHALK, G. *Clostridium halophilum* sp. nov. and *C. litorale* sp. nov., an obligate halophilic and a marine species degrading betaine in the Stickland reaction. **Archives of Microbiology**, v. 154, n. 2, p. 127–132, 1990.
- FLEXAS, J. *et al.* Diffusional conductances to CO₂ as a target for increasing photosynthesis and photosynthetic water-use efficiency. **Photosynthesis Research**, v. 117, n. 1–3, p. 45–59, 2013.
- GOSTINČAR, C. *et al.* Extremotolerance in fungi: evolution on the edge. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 71, n. 1, p. 2–11, 2010.
- GUNDE-CIMERMAN, N.; PLEMENITAŠ, A.; OREN, A. Strategies of adaptation of microorganisms of the three domains of life to high salt concentrations. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 42, n. 3, p. 353–375, 2018.
- GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genomics**, v. 2014, p. 701596, 2014.

HADLICH, G. M.; CELINO, J. J.; UCHA, J. M. Diferenciação físico-química entre apicuns, manguezais e encostas na Baía de Todos os Santos, Nordeste do Brasil. **Revista Geociências**, v. 29, n. 4, p. 633–641, 2010.

HOSSAIN, A. *et al.* Emerging roles of osmoprotectant glycine betaine against salt-induced oxidative stress in plants: a major outlook of maize (*Zea mays* L.). **Frontiers in Plant-Soil Interaction: Molecular Insights into Plant Adaptation**, p. 567–587, 2021.

HOSSEINI TAFRESHI, A.; SHARIATI, M. Dunaliella biotechnology: methods and applications. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 1, p. 14–35, 2009.

KAHRAMAN, M.; SEVIM, G.; BOR, M. The role of proline, glycinebetaine, and trehalose in stress-responsive gene expression. **Osmoprotectant-Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants: Recent Advances and Future Perspectives**, p. 241–256, 2019.

KAYA, C. Microbial modulation of hormone signaling, proteomic dynamics, and metabolomics in plant drought adaptation. **Food and Energy Security**, v. 13, n. 1, p. e513, 2024.

KHUMAIRAH, F. H. *et al.* Halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria isolated from saline soil improve nitrogen fixation and alleviate salt stress in rice plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 905210, 2022.

KUMARI, A. *et al.* Soil microbes: a natural solution for mitigating the impact of climate change. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 195, n. 12, p. 1–14, 2023.

KUZMA, J. *et al.* Parameters, practices, and preferences for regulatory review of emerging biotechnology products in food and agriculture. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, p. 1256388, 2023.

LI, X.; YU, H. Y. Halostable cellulase with organic solvent tolerance from *Haloarcula* sp. LLSG7 and its application in bioethanol fermentation using agricultural wastes. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 12, p. 1357–1365, 2013.

LIU, K. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria improve drought tolerance of crops: a review. **Plant Growth Regulation**, v. 105, n. 3, p. 567–581, 2025.

LOPATKIN, A. J.; COLLINS, J. J. Predictive biology: modelling, understanding and harnessing microbial complexity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 9, p. 507–520, 2020.

MAITRA, S. *et al.* Bioinoculants—natural biological resources for sustainable plant production. **Microorganisms**, v. 10, n. 1, p. 51, 2021.

MARGESIN, R.; MOERTELMAIER, C.; MAIR, J. Low-temperature biodegradation of petroleum hydrocarbons (n-alkanes, phenol, anthracene, pyrene) by four actinobacterial strains. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 84, p. 185–191, 2013.

MARQUES, D. M. *et al.* *Azospirillum brasilense* reduces the effects of water stress and increases maize yield in irrigated areas with high soil nitrogen doses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 7, p. 4263–4274, 2023.

MCGENITY, T. J.; OREN, A. Hypersaline environments. **Life at Extremes: Environments, Organisms and Strategies for Survival**, p. 402–437, 2012.

MIKICIUK, G. *et al.* Harnessing beneficial microbes for drought tolerance: a review of ecological and agricultural innovations. **Agriculture**, v. 14, n. 12, p. 2228, 2024.

MUHAMMAD ASLAM, M. *et al.* Mechanisms of abscisic acid-mediated drought stress responses in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1084, 2022.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651–681, 2008.

NISHU, S.; NO, J. H.; LEE, T. K. Transcriptional response and plant growth promoting activity of *Pseudomonas fluorescens* DR397 under drought stress conditions. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 4, 2022.

OREN, A. Life in magnesium- and calcium-rich hypersaline environments: salt stress by chaotropic ions. **Polyextremophiles: Life Under Multiple Forms of Stress**, v. 27, p. 215–232, 2013.

OREN, A. Taxonomy of halophilic Archaea: current status and future challenges. **Extremophiles**, v. 18, n. 5, p. 825–834, 2014.

OREN, A. The microbiology of red brines. **Advances in Applied Microbiology**, v. 113, p. 57–110, 2020.

ORHAN, F. Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 621–627, 2016.

PATRA, S. K. *et al.* Prospects of hydrogels in agriculture for enhancing crop and water productivity under water deficit condition. **International Journal of Polymer Science**, v. 2022, n. 1, p. 4914836, 2022.

PEI, B. *et al.* Effects of biofertilizer on yield and quality of crops and properties of soil under field conditions in China: a meta-analysis. **Agriculture**, v. 15, n. 10, p. 1066, 2025.

PILLAI, B. V. S.; SWARUP, S. Elucidation of the flavonoid catabolism pathway in *Pseudomonas putida* PML2 by comparative metabolic profiling. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 1, p. 143–151, 2002.

PLEMENITAŠ, A. *et al.* Adaptation to high salt concentrations in halotolerant/halophilic fungi: A molecular perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. 5, p. 82651, 2014.

PODELL, S. *et al.* Seasonal fluctuations in ionic concentrations drive microbial succession in a hypersaline lake community. **The ISME Journal**, v. 8, n. 5, p. 979–990, 2013.

RAO, M. J. *et al.* Antioxidant Defense System in Plants: Reactive Oxygen Species Production, Signaling, and Scavenging During Abiotic Stress-Induced Oxidative Damage. **Horticulturae**, v. 11, n. 5, p. 477, 2025.

- RISEH, R. S. *et al.* Reducing drought stress in plants by encapsulating plant growth-promoting bacteria with polysaccharides. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, 2021.
- SAAD, M. M. *et al.* Tailoring plant-associated microbial inoculants in agriculture: a roadmap for successful application. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 13, p. 3878–3901, 2020.
- SANTOYO, G. *et al.* Plant Growth Stimulation by Microbial Consortia. **Agronomy**, v. 11, n. 2, p. 219, 2021.
- SAUM, S. H.; MÜLLER, V. Regulation of osmoadaptation in the moderate halophile *Halobacillus halophilus*: Chloride, glutamate and switching osmolyte strategies. **Saline Systems**, v. 4, n. 1, p. 1–15, 2008.
- SAVAGE, K. N. *et al.* *Haladaptatus paucihalophilus* gen. nov., sp. nov., a halophilic archaeon isolated from a low-salt, sulfide-rich spring. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 19–24, 2007.
- SHIRINBAYAN, S.; KHOSRAVI, H.; MALAKOUTI, M. J. Alleviation of drought stress in maize (*Zea mays*) by inoculation with *Azotobacter* strains isolated from semi-arid regions. **Applied Soil Ecology**, v. 133, p. 138–145, 2019.
- SILVA, A. P. da; SILVA, J. B. da; ARAÚJO, E. D. S. Marisma, Manguezal (Mangue E Apicum): Ecosistemas De Transição Terra-Mar Do Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 13, n. 2, p. 727–742, 2020.
- SRIVASTAVA, P. *et al.* Anti-bacterial TeNPs biosynthesized by haloarchaeon *Halococcus salifodinae* BK3. **Extremophiles**, v. 19, n. 4, p. 875–884, 2015.
- STOCKINGER, H.; WALKER, C.; SCHÜSSLER, A. ‘*Glomus intraradices* DAOM197198’, a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*. **New Phytologist**, v. 183, n. 4, p. 1176–1187, 2009.
- TWEEDLEY, J. R. *et al.* Hypersalinity: Global Distribution, Causes, and Present and Future Effects on the Biota of Estuaries and Lagoons. *In: Coasts and Estuaries*. [S.l.]: Elsevier, p. 523–546, 2019.
- VASSILEV, N. *et al.* Formulation of Microbial Inoculants by Encapsulation in Natural Polysaccharides: Focus on Beneficial Properties of Carrier Additives and Derivatives. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 523157, 2020.
- VENTOSA, A.; ARAHAL, D. R. Physico-chemical characteristics of hypersaline environments and their biodiversity. *In: Extremophiles*. [S.l.: S.n.]. v. 2, p. 247–262, 2009.
- VENTOSA, A. *et al.* Microbial diversity of hypersaline environments: a metagenomic approach. **Current Opinion in Microbiology**, v. 25, p. 80–87, 2015.
- VENTOSA, A.; NIETO, J. J.; OREN, A. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 2, p. 504–544, 1998.

- VERMA, K. K. *et al.* Regulatory mechanisms of plant rhizobacteria on plants to the adaptation of adverse agroclimatic variables. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, p. 1377793, 2024.
- VILLAVARDE, J. J. *et al.* Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC) No. 1107/2009. **Pest Management Science**, v. 70, n. 1, p. 2–5, 2014.
- VINCZE, É. B. *et al.* Beneficial soil microbiomes and their potential role in plant growth and soil fertility. **Agriculture**, v. 14, n. 1, p. 152, 2024.
- VURUKONDA, S. S. K. P. *et al.* Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.
- XU, X. *et al.* Composing a microbial symphony: synthetic communities for promoting plant growth. **Trends in Microbiology**, 2025.
- YAO, X. *et al.* Trichoderma and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1160551, 2023.
- ZAJC, J. *et al.* Osmoadaptation strategy of the most halophilic fungus, *Wallemia ichthyophaga*, growing optimally at salinities above 15% NaCl. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 1, p. 247–256, 2014.
- ZHANG, J. L.; SHI, H. Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance. **Photosynthesis Research**, v. 115, n. 1, p. 1–22, 2013.
- ZHANG, L. *et al.* Promoting effect of compatible solute ectoine on the ethanol fermentation by *Zymomonas mobilis* CICC10232. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 6, p. 642–646, 2008.
- ZHU, J. K. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, v. 167, n. 2, p. 313–324, 2016.

4. ARTIGO 1

PROSPECÇÃO DE ISOLADOS MICROBIANOS DE AMBIENTES HIPERSALINOS PARA REDUÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO EM MILHO (*Zea mays* L.)

RESUMO

Considerando a analogia ecológica entre os estresses osmóticos induzidos por salinidade e por deficiência hídrica, este estudo investigou o potencial de microrganismos isolados da rizosfera de plantas adaptadas a ambientes hipersalinos como fonte de bioinsumos para promoção da tolerância à seca em plantas de milho. Foram avaliados 65 isolados microbianos, entre bactérias e fungos, previamente caracterizados taxonomicamente, quanto à sua capacidade de modular variáveis fisiológicas (índice de clorofila foliar estimado por SPAD e temperatura foliar), bioquímicas (prolina, clorofila A), morfofuncionais (relação entre a massa seca da parte aérea e da raiz – MSPA:MSR) e visuais (índice visual de seca) em plantas submetidas a estresse hídrico e posterior reidratação. Os inoculantes foram aplicados via sementes, em delineamento em blocos casualizados. A coleta dos dados das variáveis foi realizada ao longo do período experimental. As respostas foram interpretadas com base em parâmetros de resistência (manutenção do desempenho sob estresse) e resiliência (recuperação funcional pós-reidratação), tanto em análises univariadas quanto multivariadas. Os resultados revelam que linhagens pertencentes à família Bacillaceae — especialmente dos gêneros *Halobacillus*, *Virgibacillus* e *Rosellomorea* — apresentam desempenho consistentemente superior em múltiplas variáveis de estresse hídrico. Embora em menor número, outros grupos como *Halomonas*, *Vreelandella*, *Salinicola* e *Modicisalibacter* (família Halomonadaceae) também demonstraram respostas relevantes, indicando que a diversidade funcional não se restringe à filogenia. Os mecanismos envolvidos incluem preservação da integridade fotossintética, modulação da temperatura foliar, regulação de prolina e estímulo ao crescimento radicular. Essa diversidade de respostas, expressa de forma ortogonal entre os isolados, reforça o potencial do uso de consórcios microbianos com perfis funcionais complementares para mitigar os efeitos da seca de forma robusta e adaptável.

Palavras-chave: Rizosfera; Bacillaceae; *Halobacillus*; *Modicisalibacter*; bioinoculante.

4.1. Introdução

A baixa disponibilidade de água no solo é um dos principais fatores limitantes à produtividade agrícola em diversas regiões do mundo. Essa limitação pode decorrer de déficits hídricos prolongados, característicos de ambientes com baixa precipitação, ou da ocorrência de eventos climáticos imprevisíveis, como veranicos durante a estação chuvosa, que afetam lavouras conduzidas em sequeiro mesmo em regiões com regime pluviométrico considerado regular (Hussain *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2010). A redução do potencial hídrico do solo compromete processos fisiológicos essenciais das plantas, como a fotossíntese, a absorção de nutrientes e a expansão celular, afetando negativamente o crescimento e o rendimento das culturas. Em espécies de elevada importância econômica, como o milho (*Zea mays* L.), tais impactos são particularmente severos durante fases críticas do ciclo, como a germinação, a floração e o enchimento de grãos (Farooq *et al.*, 2012).

A restrição hídrica também é característica marcante de solos salinos, pois o acúmulo de sais solúveis reduz o potencial hídrico da solução do solo, dificultando a absorção de água pelas raízes. Ambientes hipersalinos, portanto, embora distintos em natureza do estresse hídrico por seca, compartilham esse denominador fisiológico comum: a limitação osmótica imposta às plantas. Em tais ambientes, a vegetação halófitas abriga comunidades microbianas com capacidade de sobreviver e interagir com plantas sob condições de estresse osmótico acentuado.

Considera-se que microrganismos adaptados a essas condições extremas possam contribuir para mitigar os efeitos do déficit hídrico em culturas agrícolas, ao transferirem às plantas mecanismos fisiológicos, bioquímicos ou moleculares de tolerância à baixa disponibilidade hídrica (Kumawat *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, microrganismos rizosféricos têm sido investigados como alternativas biotecnológicas para aumentar a resiliência vegetal sob estresse abiótico (Ge *et al.*, 2023). Bactérias promotoras do crescimento vegetal (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – PGPR) atuam por múltiplos mecanismos, como a produção de fitormônios, a fixação biológica de nitrogênio, a solubilização de nutrientes e a síntese de enzimas antioxidantes, favorecendo o desempenho vegetal mesmo sob condições adversas (Vocciante *et al.*, 2022). Adicionalmente, cepas específicas têm demonstrado capacidade de modular a fisiologia da planta, promovendo maior eficiência no uso da água, aumento da atividade fotossintética e proteção celular frente ao estresse (Akhtar *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2023).

Microrganismos isolados de ambientes hipersalinos, como apicuns e salinas, têm revelado grande plasticidade fisiológica e metabólica frente a estresses osmóticos, destacando-se pela produção de osmoprotetores, exopolissacarídeos e compostos com atividade reguladora sobre a expressão gênica vegetal (Carezzano *et al.*, 2023; Morcillo; Manzanera, 2021). Tais propriedades indicam seu potencial como bioinoculantes agrícolas em contextos de deficiência hídrica, com efeitos promissores observados em plantas cultivadas sob irrigação limitada (Gil *et al.*, 2023; Tariq *et al.*, 2022).

Apesar do avanço nesse campo, ainda são limitadas as investigações experimentais que avaliem, de forma sistemática, o desempenho de bioinoculantes oriundos de ambientes hipersalinos sobre plantas cultivadas sob estresse hídrico (De Lima Targino *et al.*, 2022). Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo prospectar microrganismos da rizosfera de plantas de ambientes hipersalinos quanto à sua capacidade de induzir tolerância à seca em plantas de milho (*Zea mays* L.), em condições controladas de casa de vegetação.

4.2. Material e Métodos

As atividades experimentais foram organizadas em três etapas principais: (i) formação da coleção microbiana, (ii) avaliação do potencial dos isolados quanto à indução de tolerância à seca em milho e (iii) análise estatística dos dados obtidos.

4.2.1. Formação da coleção microbiana

4.2.1.1. Coleta da amostra ambiental

As amostras ambientais foram coletadas no Campo Experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizado no município de Itaporanga d’Ajuda, Sergipe. A coleta foi realizada em dois ambientes hipersalinos — apicum e salina desativada há cerca de 30 anos — por meio da amostragem composta do sedimento da rizosfera das espécies vegetais dominantes: *Conocarpus erectus* (mangue-de-botão) e *Laguncularia racemosa* (mangue-branco). Em cada ambiente foram amostrados 10 pontos, e foram obtidos cerca de 100 g de sedimento por ponto, de modo a representar a variabilidade espacial. As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo, transportadas ao Laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa e mantidas sob refrigeração a 4 °C por 24h antes do início das análises. A concentração de sólidos solúveis totais (SST) na pasta de saturação dos sedimentos de apicum e salina variou de 7,7 a 10,9% e de 10,4 a 10,8%, respectivamente, com valores médios de pH de 7,4 a 8,4, para ambos os ambientes.

4.2.1.2. Isolamento, purificação, armazenamento e identificação

O isolamento dos microrganismos foi realizado por meio de uma abordagem de culturômica, utilizando múltiplos meios de cultivo e diferentes condições de incubação, com o objetivo de maximizar a diversidade microbiana obtida (Lagier *et al.*, 2012). Para o isolamento

de bactérias, foram utilizados 19 meios de cultivo com ampla diversidade de nutrientes e concentrações salinas variando de 3% a 25%, os quais são listados a seguir: 1. Sehgal e Gibbons (1960), 2. Mullakhanbhai e Larsen (1975), 3. Rodriguez-Valera *et al.* (1980), 4. Tomlinson e Hochstein (1972), 5. Caton *et al.* (2004), 6. Forsyth and Kushner (1970), 7. Kamekura *et al.* (1985), 8. Vreeland *et al.* (1980), 9. ATCC 1097, 10. ATCC 87, 11. ATCC 925, 12. ATCC 213, 13. ATCC 1590, 14. ATCC 1218, 15. ATCC 2049, 16. ATCC 1659, 17. ATCC 2402, 18. ATCC 2235, 19. ATCC 1270. As formulações dos meios ATCC foram consultadas diretamente no manual da coleção (ATCC, 2014).

Para o isolamento de fungos, foram utilizados os meios batata dextrose, extrato de malte, autolisado de levedura Czapek e dextrose Sabouraud, modificados quanto às concentrações de NaCl para obtenção de salinidades 3%, 12% e 23%.

As amostras de sedimentos foram seriadamente diluídas entre 10^{-4} e 10^{-8} , em solução salina de concentração similar aos ambientes prospectados (10% de NaCl), e alíquotas foram plaqueadas diretamente em meios sólidos com auxílio de alça de Drigalsky. As placas foram incubadas a 25 °C e 37 °C, em câmara úmida, por até 60 dias e inspecionadas a cada 2 a 4 dias quanto ao surgimento de colônias, com repicagem daquelas com características visuais distintas. Essa repicagem foi feita por, pelo menos, duas vezes consecutivas para garantir a pureza das culturas. Para o armazenamento a longo prazo, todas as culturas microbianas foram preservadas em meio líquido com glicerol 30% a -80 °C. Especificamente para produção dos inoculantes bacterianos utilizados no experimento em casa de vegetação, as estirpes bacterianas foram cultivadas nos caldos originais até atingirem densidade óptica $DO_{600} = 0,6$ e então liofilizadas com sacarose a 10% como agente crioprotetor.

As estirpes microbianas foram caracterizadas molecularmente com base no sequenciamento da região 16S do RNAr, para bactérias (Lane, 1991), e da região espaçadora transcrita interna (ITS), para fungos (White *et al.*, 1990). Para isso, as culturas foram reativadas nos caldos originais de isolamento e incubadas sob as mesmas condições. As células foram concentradas por centrifugação, e o DNA genômico foi extraído com o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, EUA). A amplificação das regiões-alvo foi realizada por PCR com primers específicos (16S: 8F, 515F, 902R e 1492R [Lane, 1991; Caporaso *et al.*, 2011]; ITS: ITS1 e ITS4 [White *et al.*, 1990]). As reações de sequenciamento foram conduzidas com o kit Big Dye Terminator v3.1 (Applied Biosystems) e os fragmentos foram analisados em sequenciador ABI 3500 XL (Thermo Fisher Scientific, EUA). As sequências obtidas foram alinhadas e comparadas com aquelas disponíveis em bancos públicos, utilizando o algoritmo BLASTn para identificação preliminar baseada em similaridade com sequências de culturas-tipo depositadas no GenBank. Todas as etapas de caracterização molecular foram realizadas na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, Minas Gerais.

4.2.2. Avaliação do potencial dos isolados na indução de tolerância à seca em milho

4.2.2.1. Produção dos inoculantes e inoculação das sementes

As culturas bacterianas liofilizadas foram reconstituídas com solução salina contendo a concentração de NaCl equivalente à do meio de isolamento original. A suspensão foi centrifugada a 15.000 rpm por 5 min, o sobrenadante contendo a sacarose residual foi descartado, e o pellet celular resultante foi ressuscitado na mesma solução salina, de modo a restabelecer a densidade óptica de $DO_{600} = 0,6$.

Os fungos foram reativados a partir das culturas armazenadas em glicerol a -80 °C, por repicagem em placas de Petri contendo os meios sólidos utilizados para o isolamento original. Após o crescimento e esporulação, as superfícies das colônias foram lavadas com solução salina isotônica (com a mesma concentração de NaCl do meio utilizado) e a concentração de conídios foi ajustada para 1×10^8 conídios/mL por meio de contagem em câmara de Neubauer.

As sementes de milho foram imersas nas respectivas suspensões bacterianas ou fúngicas por um período de 3h antes da semeadura, como estratégia de inoculação padronizada para

todos os tratamentos. Nas sementes dos tratamentos-controle, foi realizada embebição em água estéril pelo mesmo período.

4.2.2.2. Estabelecimento, condução e avaliação do experimento em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Aracaju – SE. O solo utilizado é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo e foi coletado no município de Nossa Senhora das Dores – SE, em área sob pastagem, a uma profundidade de 0 a 20 cm. Após peneiramento (malha de 4 mm), o solo foi corrigido quanto à acidez com calcário dolomítico e adubado com NPK conforme recomendações técnicas para a cultura do milho. Após homogeneização, 4 kg de solo foram acondicionados em vasos plásticos de 5 L de capacidade e com furos para drenagem. O solo não foi esterilizado, preservando-se sua microbiota autóctone.

Foi utilizada a cultivar de milho híbrido Morgan 20A55, de ciclo precoce e transgenia PWU Cruise®, recomendada para produção de grãos e silagem nas condições edafoclimáticas do estado de Sergipe. A semeadura foi realizada com quatro sementes por vaso, sendo feito o desbaste para duas plantas por vaso sete dias após a emergência.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados (DBC), com três repetições, totalizando 65 tratamentos com inoculantes microbianos — sendo 53 bacterianos e 12 fúngicos — além de dois controles não inoculados. O controle com restrição hídrica temporária (C0) foi submetido ao mesmo regime de irrigação dos tratamentos com inoculantes, o qual incluiu um período intermediário de restrição hídrica seguido de reidratação. O controle irrigado (CI) permaneceu sob irrigação plena durante todo o experimento.

O regime de irrigação consistiu em irrigação diária para suprimento da demanda hídrica plena durante as cinco primeiras semanas. Em seguida, foi imposto um período de restrição hídrica de 14 dias, seguido pela pronta retomada da irrigação plena, sete dias antes da coleta do experimento (Figura 1). Durante o estresse hídrico, a demanda diária de água foi determinada gravimetricamente com base na perda de massa dos vasos em 24 h. A partir dessa demanda, foi aplicada uma reposição hídrica parcial, com redução progressiva de 70% até 50% da necessidade hídrica plena. Esse ajuste foi realizado individualmente para cada vaso. O estabelecimento do déficit hídrico foi comprovado pelo enrolamento foliar dos tratamentos não irrigados em pelo menos parte do dia.

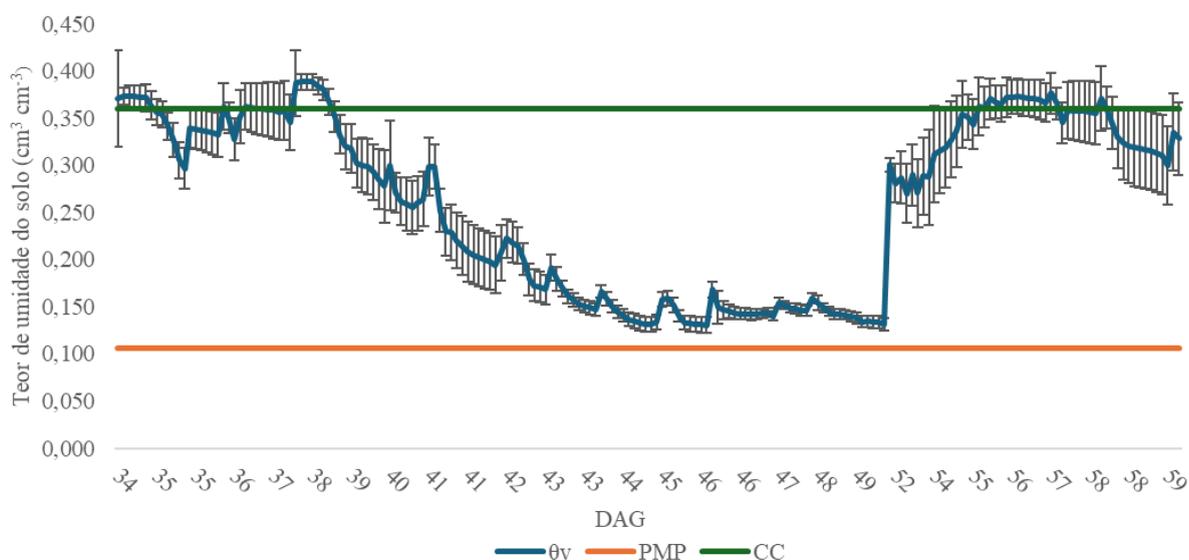


Figura 1 - Teor de umidade do solo (θ_v), em relação às suas condições de capacidade de campo (CC) e ponto de murchamento permanente (PMP), ao longo do período experimental de imposição de déficit hídrico às plantas e posterior reumidificação, em função dos dias após a germinação (DAG).

A variação da umidade do solo ao longo do regime de irrigação é apresentada na Figura 1, elaborada a partir de dados de sondas FDR instaladas em seis vasos. Para minimizar efeitos microambientais, os vasos foram aleatoriamente reposicionados, a cada semana, dentro de cada bloco.

As variáveis morfofisiológicas foram mensuradas em diferentes momentos ao longo do experimento, nas duas plantas de cada vaso, utilizando-se a média das duas leituras em cada unidade experimental.

A altura de planta foi avaliada aproximadamente a cada seis dias, utilizando fita métrica, com a medição realizada do solo até a base da lígula da folha mais jovem completamente desenvolvida, considerada a folha de referência (Abendroth *et al.*, 2011).

O teor relativo de clorofila foi estimado por meio de medidor SPAD, com três leituras por planta: na folha de referência, na folha imediatamente superior e na folha imediatamente inferior a ela. As leituras foram realizadas no terço médio de cada folha, evitando a nervura central, conforme Shaver (2003) e Uddling *et al.* (2007). A média das três folhas de cada uma das plantas foi utilizada para a unidade experimental. Seis leituras foram realizadas nas diferentes fases do regime de irrigação, sendo quatro na fase de irrigação plena, uma ao final do período de restrição hídrica e uma última, sete dias após o retorno da irrigação plena, imediatamente antes da coleta das plantas.

A temperatura foliar foi registrada em cinco datas (0, 1, 2, 6 e 10 dias após o início da restrição hídrica), entre 11h e 13h, utilizando termômetro infravermelho portátil, com medição realizada na folha mais exposta à radiação solar (Jones, 1999).

O índice visual de seca (IVS) foi determinado ao final do período de restrição hídrica, com base em escala de cinco pontos adaptada de O'Toole e Cruz (1980), variando de 1 (folhas totalmente abertas) a 5 (folhas completamente enroladas).

O conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado a partir do terço superior da folha de referência cortado de cada uma das plantas dos vasos. As folhas foram pesadas imediatamente após o corte (peso fresco), hidratadas por 24h em sacos plásticos com água destilada até imersão total (peso de turgor) e, em seguida, secas a 60 °C por 72h para determinação do peso seco. Os valores obtidos foram utilizados para o cálculo do CRA conforme o método de Weatherley (1950).

Ao final do experimento, aos 63 dias após a germinação (63 DAG), as plantas foram cortadas rente ao solo. A parte aérea foi acondicionada em sacos de papel e submetida à secagem em estufa de circulação forçada a 60 °C por 72 h, para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA).

Imediatamente antes da coleta, foram selecionados doze tratamentos com base em sua superioridade em termos de altura média das plantas, visando a investigação mais detalhada de possíveis mecanismos associados à tolerância à seca estimulada pelos inoculantes. Os tratamentos C0 e CI também foram incluídos nessa etapa.

As folhas de referência dessas plantas foram coletadas previamente, pesadas e maceradas em nitrogênio líquido com auxílio de gral e pistilo, sendo armazenadas a -80 °C até a realização das análises laboratoriais para determinação dos teores de clorofila A e prolina, descritas adiante. A massa seca dessas folhas foi estimada a partir da determinação do teor de umidade de subamostras submetidas à secagem nas mesmas condições, sendo os valores obtidos somados às respectivas massas secas da parte aérea (MSPA) para obtenção do valor total por unidade experimental.

As raízes das plantas desses tratamentos foram cuidadosamente lavadas em peneiras com malha de 1 mm após dispersão do solo em solução de meta-hexafluorato de sódio a 5%. Após a lavagem, foram submetidas ao mesmo protocolo de secagem para obtenção da massa seca de raiz (MSR). A relação MSPA:MSR foi calculada e avaliada como um possível mecanismo de tolerância à seca, uma vez que a alocação proporcional de biomassa à raiz pode indicar maior capacidade de extração de água no solo.

4.2.2.3. Determinação dos teores foliares de prolina e clorofila A

Os teores foliares de prolina e clorofila A foram determinados a partir das folhas de referência coletadas ao final do experimento, visando investigar possíveis mecanismos fisiológicos associados à tolerância à seca induzida pelos isolados microbianos. Aproximadamente 0,2 g de tecido foliar previamente macerado em nitrogênio líquido foi submetido a extração em acetona 80% (v/v) para a clorofila A, e em ácido sulfosalicílico a 3% (p/v) para a prolina.

As análises foram realizadas por espectrofotometria de absorvância no espectro visível. Para a clorofila A, a leitura foi feita no comprimento de onda de 663 nm, e a quantificação foi realizada com base na equação de Lichtenthaler (1987), sendo os resultados expressos em microgramas de clorofila A por grama de massa seca de folha. Para a prolina, a absorvância foi lida a 520 nm, com quantificação baseada em curva padrão obtida com concentrações conhecidas de prolina, conforme descrito por Bates *et al.* (1973). Os teores de prolina também foram expressos em relação à massa seca das folhas.

4.2.3. Análise estatística dos dados

A análise estatística contemplou abordagens univariadas e multivariadas com o objetivo de avaliar os efeitos dos isolados microbianos sobre variáveis associadas à tolerância à seca em plantas de milho cultivadas sob estresse hídrico, bem como à sua capacidade de recuperação fisiológica após o retorno à condição plenamente irrigada. Assim, a tolerância à seca foi abordada como um conjunto de respostas integradas, incluindo tanto o desempenho sob déficit hídrico quanto a resiliência fisiológica após a reidratação.

Para as análises univariadas, foram utilizados contrastes de médias por meio do teste de Dunnett, comparando-se cada tratamento com os dois controles: C0 e CI. Os contrastes foram realizados de forma unilateral, conforme o direcionamento das hipóteses, considerando a possibilidade de tratamentos com desempenho superior ou inferior tanto em relação ao C0 quanto ao CI. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$), sendo valores entre 5% e 15% ($0,05 < p < 0,15$) considerados como marginalmente significativos.

As variáveis analisadas individualmente incluíram: Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Conteúdo Relativo de Água (CRA), Índice Visual de Seca (IVS), além de índices derivados de altura, valor SPAD e temperatura foliar, calculados com base em leituras seriadas ao longo das fases do experimento.

Para a variável altura, foram estimadas taxas relativas de variação em três momentos distintos: durante o estresse hídrico inicial (DHi), que compreendeu os sete primeiros dias de restrição; o estresse hídrico avançado (DHa); e a fase de reposição hídrica (RP). Para o índice SPAD, as taxas relativas de variação foram estimadas em dois momentos: no momento final do déficit hídrico (DH) e durante a reposição hídrica (RP). Esses índices foram obtidos por meio da fórmula geral:

$$\text{Variação relativa} = \frac{\text{valor final} - \text{valor inicial}}{\text{valor inicial}} \quad \text{Equação 1}$$

Em que "valor final" e "valor inicial" correspondem às leituras finais e iniciais de cada fase analisada (Equação 1). Por exemplo, para a taxa de variação de altura durante o DHa, considerou-se a diferença entre a altura final na fase seca (aproximadamente 14 dias após o início da seca) e no final da fase úmida (pré-estresse), dividida por esta última. A mesma lógica foi aplicada para as demais fases e variáveis.

Para a variável temperatura foliar, como foram realizadas cinco leituras ao longo dos dias de estresse (0, 1, 2, 6 e 10 dias após a interrupção da irrigação), foi ajustada uma regressão linear simples entre temperatura e dias de estresse. O coeficiente angular dessa regressão foi adotado como indicador da taxa de aumento da temperatura sob déficit hídrico.

A matriz multivariada composta pelas nove variáveis analisadas foi denominada matriz de indução de tolerância à seca (matriz ITS). Essa matriz foi construída com os valores

padronizados entre 0 e 1 dentro de cada variável, a fim de anular os efeitos de diferença de escala.

Antes da análise de ordenação, aplicou-se o procedimento Blocked MRPP (Multi-Response Permutation Procedure), utilizando distância euclidiana e considerando os blocos como estratos. Essa abordagem multivariada foi utilizada para testar diferenças entre os tratamentos e os controles C0 e CI, e a seleção dos tratamentos destacados para representação gráfica posterior considerou aqueles com diferenças significativas ($p < 0,05$) ou marginalmente significativas ($0,05 < p < 0,15$) em relação a C0.

A matriz ITS foi então submetida à análise de ordenação NMS (Non-metric Multidimensional Scaling), com distância de Sorensen, no programa PCORD v. 6.0 (McCune e Mefford, 2006), utilizando o modo “autopilot” com opção “slow and thorough”. O número de dimensões foi definido com base nos critérios de estresse e estabilidade gráfica, sendo adotada a solução com três dimensões.

Embora a ordenação tenha considerado todos os tratamentos, os resultados gráficos e a discussão subsequente priorizaram os controles e os tratamentos selecionados via Blocked MRPP. A caracterização dos gradientes fisiológicos expressos nos eixos da ordenação foi realizada por meio de correlações de Pearson entre os escores das amostras nos eixos da NMS e os valores originais das variáveis, permitindo a interpretação biológica das principais direções de variação multivariada observadas.

4.3. Resultados

4.3.1. Identificação

Foram obtidos 65 isolados microbianos a partir de amostras de rizosfera de plantas adaptadas a ambientes hipersalinos, abrangendo tanto bactérias quanto fungos filamentosos (Tabela 1). A predominância de isolados bacterianos foi evidente, com destaque expressivo para o gênero *Halobacillus*, representado por pelo menos 28 códigos distintos (T13, T16 a T30, T37, T42, T44, T47 a T49, T51, T54, T58, T60, T61, T76, T77), caracterizando-se como o gênero mais frequente na coleção. Outros gêneros bacterianos de ocorrência recorrente incluíram *Halomonas* (T12, T43, T53, T55, T57) e *Virgibacillus* (T11, T15, T38, T62), além de representantes únicos ou pouco frequentes dos gêneros *Salinisphaera*, *Marinobacter*, *Rossellomorea*, *Vreelandella*, *Modicisalibacter*, *Pseudalkalibacillus*, *Isoptericola*, *Escherichia* e *Priestia*.

Tabela 1 - Identificação molecular dos microrganismos bacterianos e fúngicos isolados de ambientes hipersalinos

Código	Identificação gênero	Código	Identificação gênero
T11	<i>Virgibacillus</i> sp.	T44	<i>Rossellomorea</i> sp.
T12	<i>Halomonas</i> sp.	T45	<i>Pseudalkalibacillus</i> sp.
T13	<i>Halobacillus</i> sp.	T46	<i>Escherichia</i> sp.
T14	<i>Salinisphaera</i> sp.	T47	<i>Halobacillus</i> sp.
T15	<i>Virgibacillus</i> sp.	T48	<i>Halobacillus</i> sp.
T16	<i>Halobacillus</i> sp.	T49	<i>Halobacillus</i> sp.
T17	<i>Halobacillus</i> sp.	T50	<i>Priestia</i> sp.
T18	<i>Halobacillus</i> sp.	T51	<i>Halobacillus</i> sp.
T19	<i>Halobacillus</i> sp.	T52	<i>Marinobacter</i> sp.
T20	<i>Halobacillus</i> sp.	T53	<i>Halomonas</i> sp.
T21	<i>Halobacillus</i> sp.	T54	<i>Halobacillus</i> sp.
T22	<i>Halobacillus</i> sp.	T55	<i>Halomonas</i> sp.
T23	<i>Halobacillus</i> sp.	T56	<i>Vreelandella</i> sp.
T24	<i>Halobacillus</i> sp.	T57	<i>Halomonas</i> sp.
T25	<i>Halobacillus</i> sp.	T58	<i>Halobacillus</i> sp.
T26	<i>Halobacillus</i> sp.	T60	<i>Halobacillus</i> sp.
T27	<i>Halobacillus</i> sp.	T61	<i>Halobacillus</i> sp.
T28	<i>Halobacillus</i> sp.	T62	<i>Virgibacillus</i> sp.
T29	<i>Halobacillus</i> sp.	T76	<i>Halobacillus</i> sp.

Continua...

T30	<i>Halobacillus</i> sp.	T77	<i>Halobacillus</i> sp.
T31	<i>Modicisalibacter</i> sp.	T64	<i>Hortaea</i> sp.
T32	<i>Marinobacter</i> sp.	T65	<i>Paraloratospora</i> sp.
T33	<i>Isoptericola</i> sp.	T66	<i>Cladosporium</i> sp.
T34	<i>Isoptericola</i> sp.	T67	<i>Aspergillus</i> sp.
T35	<i>Vreelandella</i> sp.	T68	Em identificação
T36	<i>Rossellomorea</i> sp.	T69	Em identificação
T37	<i>Halobacillus</i> sp.	T70	Em identificação
T38	<i>Virgibacillus</i> sp.	T71	<i>Aspergillus</i> sp.
T39	<i>Salinicola</i> sp.	T72	Em identificação
T40	<i>Vreelandella</i> sp.	T73	Em identificação
T41	Em identificação	T74	<i>Penicillium</i> sp.
T42	<i>Halobacillus</i> sp.	T75	Em identificação
T43	<i>Halomonas</i> sp.		

Dentre os fungos filamentosos, os gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Hortaea*, *Paraloratospora* e *Penicillium* foram identificados, com predominância de *Aspergillus* (T67, T71), enquanto alguns isolados fúngicos ainda se encontravam em processo de identificação (T68, T69, T70, T72, T73, T75).

4.3.2. Efeito dos isolados microbianos sobre as variáveis indicadoras de tolerância à seca (análise univariada)

A análise dos contrastes para a MSPA indicou que CI apresentou a maior estimativa média (21,2 g), diferindo significativamente de C0 ($p = 0,004$) (Tabela 2). Entre os tratamentos com isolados microbianos, o T31 promoveu aumento significativo na MSPA em relação ao C0 (14,5 g; $p = 0,035$). Os tratamentos T71, T56, T48 e T24 também apresentaram estimativas superiores ao C0, com diferenças marginalmente significativas. Em comparação ao CI, todos os tratamentos, exceto T31, apresentaram valores inferiores de MSPA, com diferenças marginalmente significativas, como esperado diante da condição hídrica do próprio CI.

Tabela 2 - Resultados do teste de Dunnett para comparação dos tratamentos com C0 e CI quanto à MSPA, CRA e IVS, em plantas de milho submetidas à restrição hídrica e à posterior reposição da irrigação

	T _x – C0			T _x – CI	
	Tratamento	Estimativa	p-value	Estimativa	p-value
MSPA (g)					
	CI	21,2	0,004**	-	-
	T31	14,5	0,035*	-6,7	0,202
	T71	11,0	0,084°	-10,1	0,103°
	T56	10,9	0,087°	-10,3	0,099°
	T48	9,7	0,112°	-11,5	0,076°
	T24	9,1	0,127°	-12,1	0,067°
E.P.	8,0				
CRA					
	CI	0,233	0,000**	-	-
	T51	0,087	0,069°	-0,145	0,007**
E.P.	0,058				
IVS					
	CI	-3,171	0,000**	-	-
	T24	-1,004	0,021*	2,167	0,000**
	T39	-1,004	0,021*	2,167	0,000**
	T29	-0,504	0,152°	2,667	0,000**
	T32	-0,504	0,152°	2,667	0,000**
	T36	-0,504	0,152°	2,667	0,000**
E.P.	0,488				

** , significativo a 1% ($p < 0,01$); * , significativo a 5% ($p < 0,05$); ° , marginalmente significativo ($0,05 < p < 0,15$); T_x – C0, estimativa da diferença média entre tratamento x e o controle com restrição hídrica temporária; T_x – CI, estimativa da diferença média entre tratamento x e o controle irrigado; MSPA, massa seca da parte aérea; CRA, conteúdo relativo de água; IVS, índice visual de seca.

No que diz respeito ao CRA (Tabela 2), o CI apresentou o maior valor estimado (0,233), com diferença altamente significativa em relação ao controle não irrigado ($p = 0,000$). Entre os tratamentos com isolados, o T51 se destacou, com diferença média estimada em relação ao C0 de 0,087, sendo, portanto, marginalmente superior a esse controle sob déficit parcial de água. Porém, o desempenho deste isolado apresenta-se expressivamente inferior (-0,145) ao observado em relação ao controle com fornecimento pleno de irrigação, CI ($p = 0,007$).

Em relação ao IVS, os tratamentos T24 e T39 apresentaram reduções significativas em comparação ao C0 ($p = 0,021$) (Tabela 2), indicando uma menor expressão de sintomas visuais de estresse hídrico nas plantas submetidas a esses tratamentos. No entanto, do mesmo modo que observado para CRA, ambos apresentaram desempenho inferior em relação ao CI.

Entre as variáveis analisadas, que apresentam as taxas de variação, a VSPAD DH e a VTemp DH, ambas sob estresse hídrico avançado, destacaram-se por apresentar um número expressivamente maior de isolados com desempenho estatisticamente superior ao controle C0 (Tabela 3).

Na VSPAD DH, destacaram-se como superiores ao C0 e equivalentes ao CI, o T21 ($p = 0,017$), T46 ($p = 0,034$), T38 ($p = 0,037$), T31 ($p = 0,047$) e T61 ($p = 0,048$). Além destes, outros isolados também apresentaram aumentos marginalmente significativos em relação ao C0 (Tabela 3).

Quanto à VSPAD RP, os tratamentos T12, T76, T56 e T18 apresentaram diferenças marginalmente significativas em relação ao C0, indicando tendência de promoção de maior resiliência às plantas, visto maior taxa de crescimento em altura após o retorno da irrigação plena (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados do teste de Dunnett para comparação dos tratamentos com C0 e CI quanto às taxas relativas de variação em SPAD, altura e temperatura foliar durante os períodos de estresse hídrico e de reposição hídrica em plantas de milho

Tratamento	T _x - C0		T _x - CI	
	Estimativa	p-value	Estimativa	p-value
VSPAD DH				
CI	0,217	0,010**	-	-
T21	0,197	0,017*	-0,020	0,414
T46	0,169	0,034*	-0,048	0,303
T38	0,165	0,037*	-0,052	0,287
T31	0,156	0,047*	-0,061	0,253
T61	0,154	0,048*	-0,063	0,248
T14	0,138	0,068°	-0,079	0,196
T26	0,135	0,072°	-0,082	0,188
T48	0,133	0,076°	-0,084	0,180
T69	0,131	0,079°	-0,086	0,175
T41	0,130	0,080°	-0,087	0,172
T51	0,130	0,081°	-0,087	0,172
T44	0,123	0,093°	-0,094	0,153
T33	0,120	0,097°	-0,097	0,147°
T39	0,119	0,099°	-0,098	0,145°
T19	0,108	0,121°	-0,109	0,119°
T57	0,100	0,139°	-0,117	0,104°
T58	0,098	0,145°	-0,119	0,099°
T23	0,095	0,151°	-0,122	0,094°
E.P.	0,092			
VSPAD RP				
CI	-0,738	0,995	-	-
T12	0,303	0,143°	1,041	0,998
T76	0,318	0,131°	1,056	0,999
T56	0,343	0,113°	1,081	0,999
T18	0,355	0,106°	1,093	0,999
E.P.	0,283			

Continua...

VTemp DH					
	CI	-0,379	0,016*	-	-
	T55	-0,467	0,004**	-0,088	0,694
	T34	-0,383	0,015*	-0,004	0,510
	T48	-0,364	0,019*	0,015	0,466
	T22	-0,362	0,020*	0,017	0,461
	T53	-0,356	0,022*	0,023	0,448
	T56	-0,340	0,026*	0,038	0,413
	T47	-0,335	0,028*	0,044	0,401
	T54	-0,302	0,043*	0,077	0,330
	T62	-0,302	0,043*	0,077	0,330
	T24	-0,287	0,051°	0,091	0,300
	T37	-0,269	0,062°	0,110	0,265
	T65	-0,269	0,063°	0,110	0,264
	T45	-0,251	0,076°	0,128	0,232
	T26	-0,249	0,078°	0,130	0,229
	T71	-0,242	0,083°	0,137	0,217
	T32	-0,231	0,093°	0,148	0,199
	T72	-0,231	0,093°	0,148	0,199
	T28	-0,230	0,094°	0,149	0,197
	T18	-0,225	0,099°	0,153	0,190
	T67	-0,216	0,109°	0,163	0,176
	T50	-0,193	0,135°	0,186	0,144°
	T69	-0,191	0,138°	0,188	0,141°
	T31	-0,190	0,139°	0,189	0,140°
	T35	-0,183	0,148°	0,196	0,131°
E.P.	0,174				
VAlt DHi					
	CI	0,037	0,554	-	-
	T35	0,070	0,151°	0,032	0,685
E.P.	0,067				
VAlt DHa					
	CI	0,516	0,000**	-	-
	T44	0,083	0,085°	-0,419	0,000**
	T30	0,097	0,120°	-0,433	0,000**
E.P.	0,070				
VAlt RP					
	CI	-0,202	0,860	-	-
	T12	0,358	0,028*	0,560	0,999
	T53	0,238	0,101°	0,440	0,990
	T60	0,211	0,128°	0,413	0,986
	T52	0,196	0,146°	0,398	0,983
E.P.	0,186				

**, significativo a 1% ($p < 0,01$); *, significativo a 5% ($p < 0,05$); °, marginalmente significativo ($0,05 < p < 0,15$); $T_x - C_0$, estimativa da diferença média entre tratamento x e o controle com restrição hídrica temporária; $T_x - CI$, estimativa da diferença média entre tratamento x e o controle irrigado; VSPAD DH, taxa de variação de SPAD sob déficit hídrico; VSPAD RP, taxa de variação de SPAD sob reposição da irrigação; VTemp DH, taxa de variação de temperatura sob déficit hídrico avançado; VAlt DHi, taxa de variação em altura sob déficit hídrico inicial; VAlt DHa, taxa de variação em altura sob déficit hídrico avançado e VAlt RP, taxa de variação em altura sob reposição da irrigação.

Em termos de VTemp DH, T55 ($p = 0,004$), T34 ($p = 0,015$), T48 ($p = 0,019$), T22 ($p = 0,020$), T53 ($p = 0,022$), T56 ($p = 0,026$), T47 ($p = 0,028$), T54 ($p = 0,043$) e T62 ($p = 0,043$) apresentaram menor variação no aquecimento foliar, comparados a C_0 , e não diferiram do CI. Dentre os isolados que apresentaram melhor desempenho térmico em relação ao C_0 , apenas T50, T69, T31 e T35 foram inferiores ao CI com relação a este desempenho (Tabela 3).

Ao contrário do observado para VAlt DHi, em que diferenças entre CI e C_0 , bem como entre os tratamentos inoculados e esses controles foram inexistentes, sob VAlt DHa os tratamentos T44 ($p = 0,085$) e T30 ($p = 0,120$) apresentaram aumento na variação de altura em comparação ao C_0 . No entanto, em relação ao CI, ambos os tratamentos diferiram de forma altamente significativa ($p = 0,000$), evidenciando desempenho inferior frente à condição de irrigação plena (Tabela 3).

Em VAlt RP, o tratamento T12 apresentou aumento significativo em relação ao C_0 ($p = 0,028$), enquanto os tratamentos T53, T60 e T52 mostraram diferenças marginalmente

significativas. Nenhum dos tratamentos diferiu significativamente do CI (Tabela 3). Isso sugere um potencial de recuperação mais eficiente da altura após reidratação em relação ao estresse. Vale lembrar que o T12 também apresentou variação positiva na VSPAD RP, ainda que marginalmente, reforçando seu potencial de recuperação após a reidratação.

4.3.3. Efeito dos isolados microbianos sobre as variáveis indicadoras de tolerância à seca (análise multivariada)

A análise multivariada dos dados biométricos e fisiológicos foi conduzida por meio do teste MRPP bloqueado, da ordenação NMS (Non-metric Multidimensional Scaling) e da correlação de Pearson entre variáveis e eixos. O MRPP identificou o CI como significativamente distinto do C0, com $p = 0,021$. Entre os tratamentos inoculados, destacaram-se com diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) os tratamentos T22, T53, T31 e T26. Outros tratamentos, como T48, T28, T56, T62, T39, T29 e T21, apresentaram significância marginal ($0,05 < p < 0,15$) em relação ao C0, conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados do teste MRPP comparando os tratamentos inoculados e CI em relação ao C0

Contrastes			T	p
C0	vs.	CI	-295.286.030	0.021*
C0	vs.	T22	-245.385.382	0.024*
C0	vs.	T53	-215.480.737	0.025*
C0	vs.	T31	-205.212.953	0.034*
C0	vs.	T26	-168.259.166	0.041*
C0	vs.	T48	-176.264.436	0.051°
C0	vs.	T28	-142.797.163	0.071°
C0	vs.	T56	-140.110.481	0.072°
C0	vs.	T62	-134.641.413	0.080°
C0	vs.	T39	-125.038.497	0.111°
C0	vs.	T29	-106.990.610	0.134°
C0	vs.	T21	-104.418.257	0.148°

*, significativo a 5% ($p < 0,05$); °, marginalmente significativo ($0,05 < p < 0,15$); C0, controle com restrição hídrica temporária; CI, controle irrigado.

Esses isolados bacterianos com desempenho funcional destacado abrangeram majoritariamente representantes da família Bacillaceae, incluindo os gêneros *Halobacillus* (seis isolados), *Virgibacillus* e *Rosellomorea*. Também foram selecionados isolados de outras famílias, como *Modicisalibacter*, *Halomonas*, *Vreelandella* e *Salinicola* (Halomonadaceae), o que evidencia a diversidade funcional associada à tolerância à seca.

A ordenação NMS tridimensional explicou 85% da variância total, distribuída entre os Eixos 1 (52%), 2 (20%) e 3 (13%). A representação gráfica consolidada nos planos Eixo 1 × 2 e Eixo 1 × 3 está apresentada na Figura 2. A opção por não incluir o plano 2 × 3 deve-se à menor capacidade explicativa conjunta dos respectivos eixos e à redundância visual das distribuições. A apresentação dos planos envolvendo o Eixo 1 já permite visualizar os principais gradientes funcionais de resposta entre os tratamentos.

A interpretação dos eixos foi baseada nas correlações de Pearson entre os escores da ordenação e os valores originais das variáveis (Tabela 5). O Eixo 1, fortemente correlacionado com VSPAD DH ($r = 0,846$), CRA ($r = 0,389$), IVS ($r = -0,555$) e VSPAD RP ($r = -0,761$), descreve um gradiente de conservação funcional sob estresse. Os tratamentos mais à direita nesse eixo, como T31, T48, T21 e T39, foram os que conjuntamente melhor preservaram o status hídrico (CRA) e a atividade fotossintética (SPAD), com menor expressão de sintomas visuais de seca.

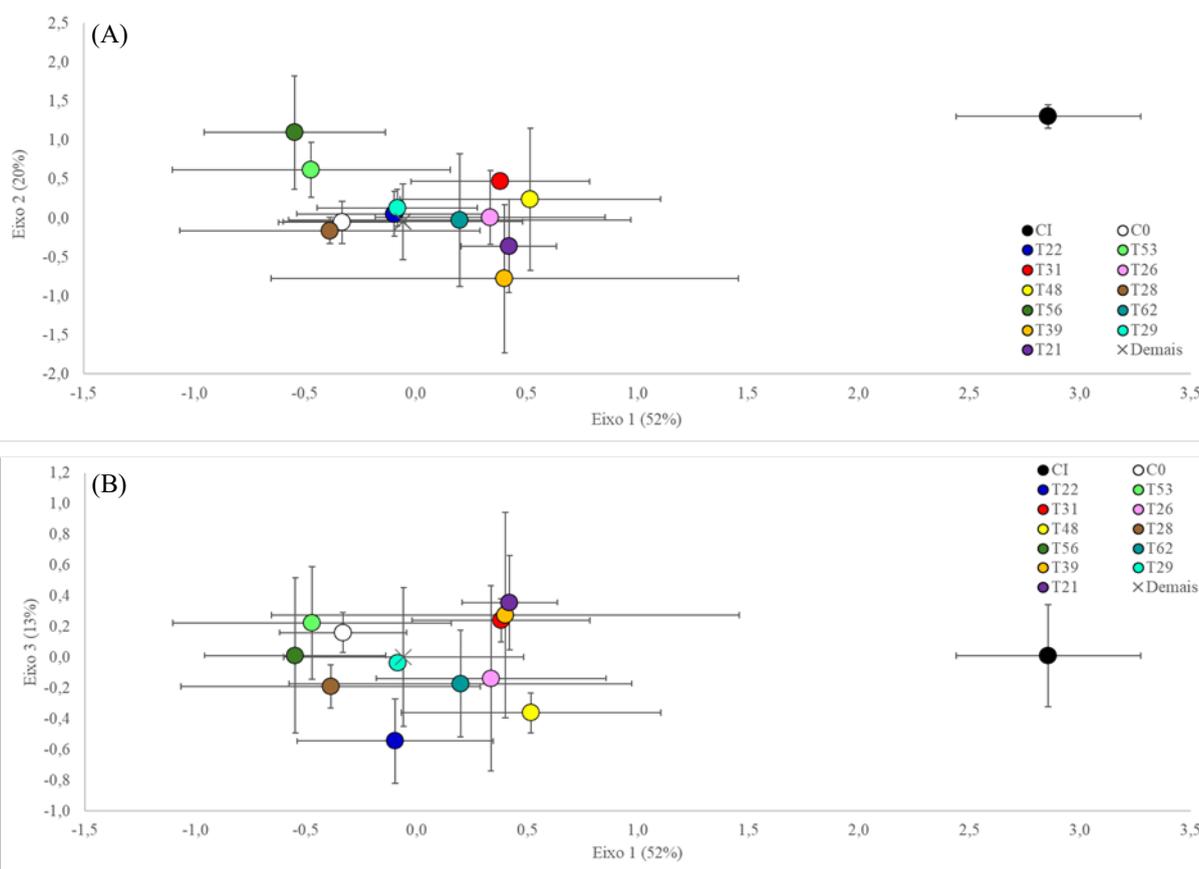


Figura 2 - Planos da ordenação multivariada por NMS descritos pelos eixos 1×2 (A) e 1×3 (B), contendo a distribuição dos tratamentos de inoculação com isolados microbianos (Tx) e dos controles CI (controle irrigado) e C0 (controle com restrição hídrica temporária), durante o ciclo de crescimento do milho. Entre parênteses, ao lado dos títulos dos eixos, está indicada a porcentagem da variância explicada por cada componente da ordenação. Os pontos representam os centroides (médias multivariadas) dos tratamentos previamente selecionados pelo teste MRPP bloqueado ($p < 0,15$), e as barras de erro horizontais e verticais indicam ± 1 desvio padrão das três repetições de cada tratamento ao longo dos respectivos eixos da ordenação (Eixo 1 vs. Eixo 2 em A, Eixo 1 vs. Eixo 3 em B). O plano definido pelos Eixos 2 e 3 não foi incluído por representar menor variabilidade e apresentar distribuição redundante em relação aos padrões já evidenciados nos planos com o Eixo 1.

Tabela 5 - Coeficientes de correlação entre as variáveis selecionadas representadas pelos escores das amostras ao longo dos Eixos 1, 2 e 3 da NMS

Variáveis	Coeficientes de correlação		
	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
VAlt DHi	-0,014	0,134	-0,560*
VAlt DHa	0,369*	0,346*	-0,275*
VAlt RP	-0,097	0,257	0,475*
CRA	0,389*	-0,126°	0,104
IVS	-0,555*	0,004	-0,049
MSPA	0,108	0,813*	0,338*
VSPAD DH	0,846*	-0,239*	0,124
VSPAD RP	-0,761*	0,319*	-0,038
VTemp DHa	-0,288	-0,417*	0,598*

*, significativo a 5% ($p < 0,05$); °, marginalmente significativo ($0,05 < p < 0,15$); VAlt DHi, taxa de variação em altura sob déficit hídrico inicial; VAlt DHa, taxa de variação em altura sob déficit hídrico avançado e VAlt RP, taxa de variação em altura sob reposição da irrigação; CRA, conteúdo relativo de água; IVS, índice visual de seca; MSPA, massa seca da parte aérea; VSPAD DH, taxa de variação de SPAD sob déficit hídrico; VSPAD RP, taxa de variação de SPAD sob reposição da irrigação; VTemp DH, taxa de variação de temperatura sob déficit hídrico; *, significativo a 5% ($p < 0,05$); °, marginalmente significativo ($0,05 < p < 0,15$).

O Eixo 2, associado positivamente a MSPA ($r = 0,813$) e VAlt DHa ($r = 0,346$), bem como negativamente a VTemp DH ($r = -0,417$), desse modo, o eixo descreve a capacidade de sustentar acúmulo produtivo sob seca associado a um melhor controle térmico. Os tratamentos CI, T56, T31 e T53, localizados nos escores mais elevados deste eixo, destacam-se como candidatos com alto potencial para promoção desta capacidade.

4.3.4. Teor de clorofila e prolina foliar

A Figura 3 sintetiza os resultados obtidos para uma subamostra de 12 tratamentos inoculados que apresentaram desempenho superior em altura média ao longo dos blocos, além dos controles C0 e CI. Esses tratamentos foram selecionados com o objetivo de aprofundar a análise em variáveis bioquímicas e morfofisiológicas relacionadas à tolerância ao estresse hídrico e/ou resiliência após o período seco, incluindo o teor foliar de clorofila A, o conteúdo de prolina, a massa seca de raízes e a razão entre as massas seca da parte aérea e das raízes.

Em relação ao teor de clorofila A (Figura 3A), destacaram-se os tratamentos T29, T54, T57 e T66, com valores médios mais elevados e significância marginal frente ao C0. Esse padrão indica maior recuperação da integridade fotossintética de plantas inoculadas com esses isolados após a suspensão do estresse hídrico.

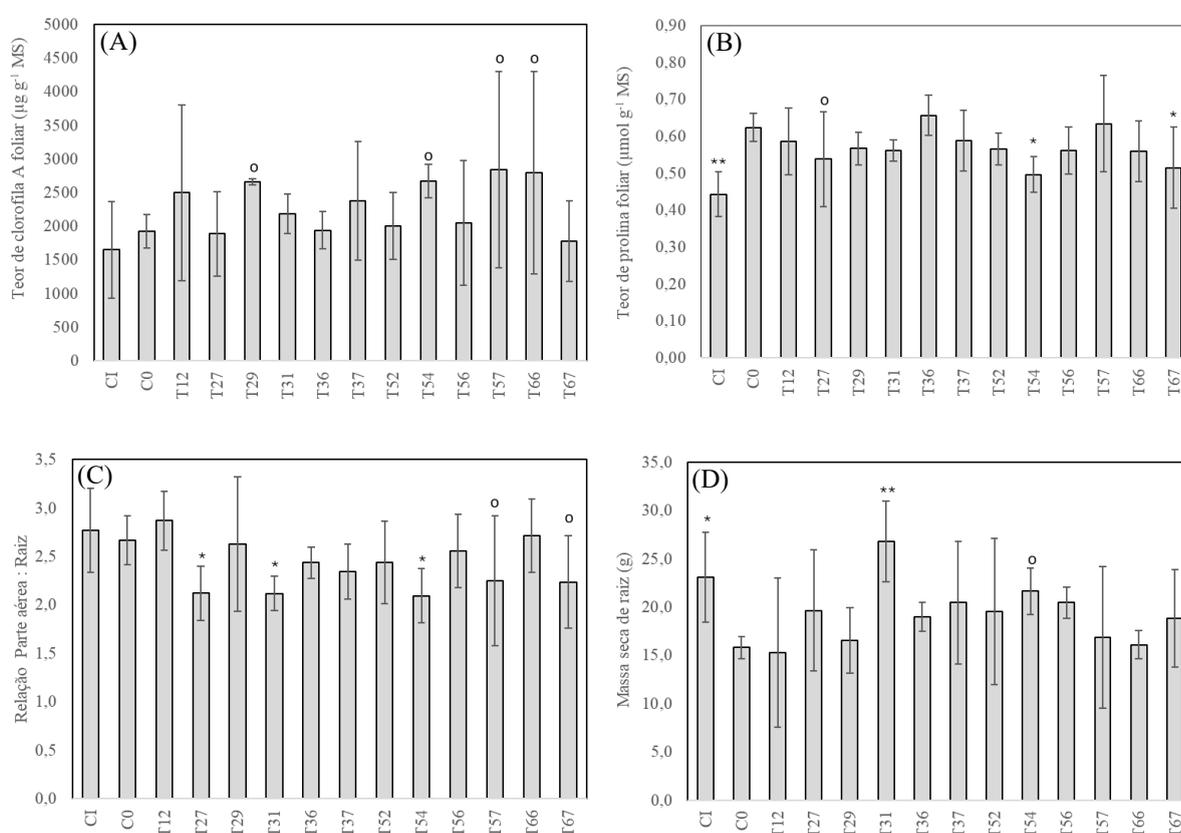


Figura 3 - Indicadores bioquímicos e morfofisiológicos avaliados em uma subamostra de 12 tratamentos inoculados com desempenho superior em altura média, além dos controles C0 (controle com restrição hídrica temporária) e CI (controle irrigado), sete dias após reidratação: teor foliar de clorofila A (A), conteúdo de prolina nas folhas (B), razão entre a massa seca da parte aérea e de raízes (C) e massa seca de raízes (D). Os pontos representam a média de três blocos, e as barras de erro indicam o desvio padrão. Significância estatística em comparação ao controle C0: **, significativo a 1% ($p < 0,01$); *, significativo a 5% ($p < 0,05$); °, marginalmente significativo ($0,05 < p < 0,15$).

Quanto ao conteúdo de prolina (Figura 3B), o C0 apresentou os maiores níveis médios, significativamente superiores ao CI, refletindo a resposta ao estresse hídrico prolongado. Em contrapartida, tratamentos como T54 e T67 apresentaram teores significativamente mais baixos

em relação ao C0, e o T27 mostrou tendência marginal. A redução dos níveis de prolina após uma semana de reidratação sugere maior resiliência fisiológica das plantas inoculadas com esses isolados.

A MSPA:MSR (Figura 3C) foi significativamente menor nos tratamentos T27, T31 e T54, enquanto T57 e T67 exibiram valores marginalmente inferiores ao C0. Relações mais baixas podem indicar uma adaptação morfofisiológica à seca, com alocação preferencial de biomassa em estruturas de absorção. Destaca-se que esses mesmos tratamentos mantiveram alto desempenho em altura, sugerindo não apenas plasticidade morfológica, mas também eficiência funcional.

No que se refere à massa seca de raiz (Figura 3D), os tratamentos T31 e CI apresentaram os maiores valores médios, significativamente superiores ao C0, enquanto o T54 obteve valor marginalmente superior.

4.4. Discussão

A análise combinada das respostas fisiológicas, bioquímicas e morfofuncionais revelou a existência de um subconjunto de isolados microbianos com desempenho expressivamente superior na promoção de tolerância à seca em plantas de milho. Esse grupo não apenas apresentou efeitos significativos em múltiplas variáveis, mas também exibiu coerência funcional em análises multivariadas, destacando-se tanto por sua resistência (capacidade de manter desempenho sob estresse) quanto por sua resiliência (eficiência de recuperação após reidratação).

Chama atenção o fato de que muitos desses isolados pertencem à família Bacillaceae, representada pelos gêneros *Halobacillus*, *Virgibacillus* e *Rossellomorea*, todos identificados na Tabela 1. Essa convergência sugere que linhagens dessa família compartilham atributos fisiológicos relevantes à tolerância à seca — como produção de osmoprotetores, enzimas antioxidantes e capacidade de colonização eficiente da rizosfera. Estudos prévios confirmam que membros da família Bacillaceae, notadamente *Bacillus* e *Priestia*, promovem aclimação vegetal sob déficit hídrico por meio de múltiplas vias, incluindo estímulo ao crescimento radicular, redução da temperatura foliar e regulação de metabólitos de estresse (Hwang *et al.*, 2022; Vurukonda *et al.*, 2016).

Entre os isolados avaliados, o T31 (*Modicisalibacter*) destacou-se por reunir respostas positivas simultâneas em variáveis fisiológicas (SPAD, temperatura foliar), morfofuncionais (MSPA:MSR), além de se destacar entre os isolados na análise conjunta de todas as variáveis avaliadas (MRPP, Tabela 4), posicionando-se entre os escores mais extremos nas dimensões 1 e 3 da ordenação NMS. Esse desempenho multivariado consistente evidencia sua superioridade funcional em diferentes dimensões do fenótipo vegetal sob estresse hídrico, posicionando o T31 como um dos candidatos prioritários ao desenvolvimento tecnológico.

O gênero *Modicisalibacter* compreende bactérias moderadamente halofílicas, isoladas de ambientes salinos e contaminados, com capacidade adaptativa a condições extremas de salinidade. Estudos existentes descrevem sua ocorrência em ambientes ricos em sais e hidrocarbonetos. *Modicisalibacter tunisiensis* foi inicialmente isolado de águas de produção de petróleo e caracterizado como aeróbio, gram-negativo e capaz de crescer sob altas concentrações de NaCl (Gam *et al.*, 2007).

Mais recentemente, *Modicisalibacter* sp. cepa Wilcox demonstrou capacidade de degradar compostos orgânicos tóxicos, como BTEX, fenóis e alcanos, em efluentes industriais salinos, apresentando potencial em processos de biorremediação sob condições hipersalinas (Marsh *et al.*, 2021). Apesar do potencial metabólico demonstrado por algumas cepas, trata-se de um grupo ainda pouco explorado, especialmente no que se refere à interação com plantas e à aplicação agrícola como promotores de crescimento vegetal ou atenuadores de estresses abióticos.

Além dele, os isolados T48, T39, T62, T21 e T26 também se destacaram por favorecer a conservação funcional das plantas sob estresse hídrico. De modo geral, esses isolados estiveram associados a perfis combinando melhor manutenção do estado hídrico, preservação da atividade fotossintética e menor intensidade de sintomas visuais de seca, sugerindo uma atuação coordenada na sustentação das funções fisiológicas e na promoção da resistência à seca durante o período de limitação hídrica.

Em complemento a esses mecanismos de resistência, observou-se também a manifestação de componentes associados à resiliência funcional, evidenciada pela retomada de processos fisiológicos e de crescimento após a cessação do estresse hídrico. Nesse sentido, alguns isolados apresentaram padrões consistentes de recuperação, com desempenho superior na reativação da atividade fotossintética (T12 e T56), na retomada do crescimento em altura (T12 e T53) e na redução dos teores foliares de prolina (T27, T54 e T67) logo após a reidratação. Esses resultados ampliam a compreensão sobre a diversidade funcional entre os isolados avaliados, indicando que estratégias de recuperação ativa podem coexistir e complementar os mecanismos de manutenção durante o estresse.

Adicionalmente, a variação na razão parte aérea/raiz (MSPA:MSR) também contribuiu para caracterizar diferentes estratégias morfofuncionais de tolerância à seca. Isolados capazes de modular essa relação de forma equilibrada (T27, T31, T54, T57 e T67) apresentaram maior adequação ao ambiente hídrico restritivo, favorecendo o suporte radicular sem comprometer a biomassa aérea, o que reforça seu papel na sustentação funcional das plantas tanto durante quanto após o estresse hídrico.

A coexistência de isolados com estratégias divergentes — uns promovendo estabilidade fisiológica sob estresse, outros favorecendo a recuperação morfofisiológica — revela um cenário funcional ortogonal, altamente relevante para o desenvolvimento de inoculantes consorciados. Essa abordagem tem respaldo experimental: ao combinarem *Pseudomonas fluorescens* e *Azospirillum brasilense* em trigo sob déficit hídrico, observaram efeito sinérgico superior à aplicação isolada de cada linhagem. A sinergia resultou da atuação complementar entre os microrganismos — *Pseudomonas* ativou vias antioxidantes e reduziu danos fisiológicos, enquanto *Azospirillum* estimulou o crescimento radicular e aumentou a extração de água (Naiman; Latrónico; García de Salamone, 2009).

Do ponto de vista fisiológico e molecular, os mecanismos subjacentes ao efeito dos isolados são compatíveis com a literatura especializada. A regulação da prolina, por exemplo, tem papel duplo: atua como osmorregulador durante o estresse, mas sua rápida degradação após a reidratação é indicativa de recuperação funcional do metabolismo celular (Szabados; Savouré, 2010).

Da mesma forma, o SPAD e o teor de clorofila A foram mantidos em níveis elevados em alguns isolados, indicando preservação da integridade fotossintética — aspecto frequentemente comprometido sob estresse hídrico. Bactérias que mantêm clorofila elevada contribuem para o atraso da senescência foliar e para maior eficiência fotossintética durante o estresse (Azeem *et al.*, 2022).

Do ponto de vista molecular, a literatura também documenta mecanismos como a ativação de genes de resposta ao estresse hídrico via sinalização por LCOs (lipopolissacarídeos). Essa abordagem foi validada em pepino: a aplicação de um consórcio de três bactérias PGPR (*Bacillus cereus*, *B. subtilis* e *Serratia* sp.) sob déficit hídrico resultou em aumento do teor de clorofila e redução do murchamento foliar. A sinergia bacteriana, em conjunto, ativou enzimas antioxidantes e melhorou a resposta fisiológica das plantas (Wang *et al.*, 2012). A produção de exopolissacarídeos, frequentemente observada em microrganismos halotolerantes, também contribui para a retenção hídrica no solo e proteção das raízes sob seca (Morcillo; Manzanera, 2021).

Do ponto de vista fisiológico e molecular, a associação planta–microrganismo ativa uma série de mecanismos coordenados que favorecem a tolerância à seca. Um dos primeiros efeitos observados é o controle térmico, que surge como estratégia central. A interação entre composto

orgânico e microrganismos benéficos favoreceu o ajuste da condutância estomática e da taxa de transpiração em plantas de milho, contribuindo para o resfriamento foliar e maior eficiência no uso da água sob condições de déficit hídrico (Wang *et al.*, 2025). Em paralelo, muitos desses microrganismos produzem exopolissacarídeos (EPS) que promovem a retenção de água, preservam a clorofila e mantêm eficiência fotossintética durante a seca (Bhagat *et al.*, 2021).

Outro mecanismo crítico envolve o ajuste osmótico via prolina, acumulando-se sob estresse e sendo rapidamente catabolizado após a reidratação — sinal de recuperação funcional. A sinalização molecular por LCOs e aquaporinas também induz genes envolvidos no transporte de água e na defesa antioxidante, reforçando os sistemas hidráulico e de proteção celular (Kapilan; Vaziri; Zwiasek, 2018; Lucas *et al.*, 2022).

Além disso, muitos isolados demonstraram capacidade de equilibrar a razão parte aérea-raiz (MSPA:MSR), promovendo arquitetura radicular mais robusta sem comprometer a parte aérea. Essa modulação ajusta a extração de água às demandas transpiratórias, contribuindo para a manutenção funcional mesmo durante o estresse (Bacher *et al.*, 2022).

Esses diferentes mecanismos — controle térmico, proteção do aparato fotossintético, ajuste osmótico e modulação da arquitetura radicular — evidenciam a complexidade e a complementaridade das estratégias funcionais induzidas pelos isolados avaliados. Esse conjunto de respostas coordenadas oferece uma base sólida para o desenvolvimento de inoculantes mais eficientes sob condições de estresse hídrico.

A pertinência agrônômica desses resultados se reforça ao considerar bioinsumos já registrados para tolerância à seca. Um exemplo é o AURAS, bioinsumo desenvolvido pela Embrapa com base na cepa *Bacillus aryabhatai* CMAA 1363, isolada da rizosfera do mandacaru no Semiárido brasileiro. O AURAS atua principalmente por estímulo ao crescimento radicular, proteção da raiz contra dessecação e manutenção do turgor da parte aérea em condições de baixa disponibilidade hídrica (Embrapa, 2023). Embora eficaz, o AURAS baseia-se em uma única linhagem com estratégia funcional voltada à resistência. Os isolados deste estudo, por outro lado, ampliam o espectro funcional ao incluir perfis resilientes com forte recuperação pós-estresse, representando uma nova base funcional e taxonômica para o desenvolvimento de inoculantes sob seca moderada a severa.

Portanto, os resultados obtidos neste estudo não apenas identificam linhagens promissoras oriundas de ambientes hipersalinos, como também os associam aos avanços atuais da biotecnologia agrícola voltada à tolerância à seca. A sinergia entre os achados experimentais e os mecanismos fisiológicos já descritos na literatura científica reforça a relevância dos gêneros isolados e indica que sua aplicação potencial pode ir além do experimental, ingressando com solidez no campo tecnológico.

4.5. Conclusões

Isolados microbianos de ambientes hipersalinos são capazes de promover alterações fisiológicas, bioquímicas e morfofuncionais que aumentam significativamente a tolerância de plantas de milho à seca. Isolados das famílias Bacillaceae (*Halobacillus*, *Virgibacillus* e *Rosellomorea*) e Halomonadaceae (*Halomonas*, *Vreelandella*, *Salinicola* e *Modicisalibacter*) apresentaram desempenho relevante frente a variáveis de estresse hídrico, refletindo a presença de mecanismos funcionais de resistência e resiliência.

Entre eles, o isolado de *Modicisalibacter* sp. se sobressaiu como o mais eficiente, por promover impactos positivos múltiplos e consistentes em diferentes variáveis fisiológicas e bioquímicas, posicionando-se como candidato de destaque para aplicações biotecnológicas em condições de déficit hídrico. Além dessa diversidade taxonômica, evidencia-se também uma diversidade funcional entre os isolados, o que reforça o potencial do uso de consórcios microbianos com estratégias complementares para mitigar os efeitos da seca de forma mais robusta.

Os mecanismos envolvidos incluem potencialmente manutenção da integridade fotossintética e modulação da síntese e degradação de prolina, além da indução de respostas antioxidantes e estímulo ao crescimento radicular. As evidências obtidas apontam para novas possibilidades de desenvolvimento de bioinsumos com base em estratégias funcionais distintas daquelas já disponíveis comercialmente.

Essas conclusões corroboram o objetivo geral do estudo e indicam que microrganismos oriundos de ecossistemas extremos representam uma fonte promissora e ainda subexplorada de tecnologias biológicas aplicáveis à agricultura sob estresse hídrico.

4.6. Referências Bibliográficas

ABENDROTH, L. J. *et al.* Corn growth and development. **Ames: Iowa State University Extension**, 2011. PMR 1009.

AKHTAR, S. S. *et al.* *Bacillus licheniformis* FMCH001 increases water use efficiency via growth stimulation in both normal and drought conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 508886, 2020.

ATCC. Microbial media formulations. American Type Culture Collection, 2014. Disponível em: <https://www.atcc.org/resources/microbial-media-formulations>. Acesso em: 2025.

AZEEM, M. *et al.* Drought stress amelioration in maize (*Zea mays* L.) by inoculation of *Bacillus* spp. strains under sterile soil conditions. **Agriculture**, v. 12, n. 1, p. 50, 2022.

BACHER, H. *et al.* Modifying root-to-shoot ratio improves root water influxes in wheat under drought stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, n. 5, p. 1643–1654, 2022.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205–207, 1973.

BHAGAT, N. *et al.* Bacterial exopolysaccharides: insight into their role in plant abiotic stress tolerance. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 8, p. 1045, 2021.

CAPORASO, J. G. *et al.* Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, suppl. 1, p. 4516–4522, 2011.

CAREZZANO, M. E. *et al.* Exopolysaccharides synthesized by rhizospheric bacteria: a review focused on their roles in protecting plants against stress. **Applied Microbiology**, v. 3, n. 4, p. 1249–1261, 2023.

DE LIMA TARGINO, H. M. *et al.* Maize-associated *Meyerozyma* from the Brazilian semiarid region are effective plant growth-promoting yeasts. **Rhizosphere**, v. 22, p. 100538, 2022.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Produto biológico com *Bacillus aryabhattai* aumenta resistência à seca. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/60941801/bacteria-encontrada-no-mandacaru-vira-bioproduto-que-promove-tolerancia-a-seca-em-plantas>. Acesso em: 24 jun. 2025.

FAROOQ, M. *et al.* Drought stress in plants: an overview. **Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features**, v. 9783642326530, p. 1–33, 2012.

GAM, Z. B. A. *et al.* Modicisalibacter tunisiensis gen. nov., sp. nov., an aerobic, moderately halophilic bacterium isolated from an oilfield-water injection sample, and emended description of the family Halomonadaceae Franzmann et al. 1989 emend. Ntougias et al. 2007. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 10, p. 2307–2313, 2007.

GE, J. *et al.* Microbial coexistence in the rhizosphere and the promotion of plant stress resistance: a review. **Environmental Research**, v. 222, p. 115298, 2023.

GIL, T. *et al.* Isolation and characterization of culturable osmotolerant microbiota in hypersaline and hypergypsic soils as new treatment for osmotic stress in plants. **Soil Systems**, v. 7, n. 4, p. 86, 2023.

HUSSAIN, S. *et al.* Salinity stress in arid and semi-arid climates: effects and management in field crops. **Climate Change and Agriculture**, 2019.

HWANG, H. H. *et al.* A plant endophytic bacterium Priestia megaterium StrainBP-R2 isolated from the halophyte Bolboschoenus planiculmis enhances plant growth under salt and drought stresses. **Microorganisms**, v. 10, n. 10, p. 2047, 2022.

JONES, H. G. Use of infrared thermometry for estimation of stomatal conductance as a possible aid to irrigation scheduling. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 95, n. 3, p. 139–149, 1999.

KAPILAN, R.; VAZIRI, M.; ZWIAZEK, J. J. Regulation of aquaporins in plants under stress. **Biological Research**, v. 51, n. 1, p. 1–11, 2018.

KUMAWAT, C. *et al.* Microbial diversity and adaptation under salt-affected soils: a review. **Sustainability**, v. 14, n. 15, p. 9280, 2022.

LAGIER, J.-C. *et al.* Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 12, p. 1185–1193, 2012.

LANE, D. J. 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*, 1991.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350–382, 1987.

LIU, J. *et al.* Effect of Bacillus paralicheniformis on soybean (Glycine max) roots colonization, nutrient uptake and water use efficiency under drought stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 209, n. 4, p. 547–565, 2023.

LUCAS, J. A. *et al.* Lipo-Chitooligosaccharides (LCOs) as elicitors of the enzymatic activities related to ROS scavenging to alleviate oxidative stress generated in tomato plants under stress by UV-B radiation. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1246, 2022.

MARSH, W. S. *et al.* Isolation and characterization of a halophilic Modicisalibacter sp. strain Wilcox from produced water. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2021.

MORCILLO, R. J. L.; MANZANERA, M. The effects of plant-associated bacterial exopolysaccharides on plant abiotic stress tolerance. **Metabolites**, v. 11, n. 6, p. 337, 2021.

NAIMAN, A. D.; LATRÓNICO, A.; GARCÍA DE SALAMONE, I. E. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: impact on the production and culturable rhizosphere microflora. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 44–51, 2009.

O'TOOLE, J. C.; CRUZ, R. T. Response of leaf water potential, stomatal resistance, and leaf rolling to water stress. **Plant Physiology**, v. 65, p. 428–432, 1980.

SHAVER, T. M. Using a Chlorophyll Meter to Improve N Management. University of Nebraska–Lincoln Extension, G1632, 2003.

SILVA, E. N. *et al.* Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v. 74, n. 10, p. 1130–1137, 2010.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 2, p. 89–97, 2010.

TARIQ, M. *et al.* Biofertilizer microorganisms accompanying pathogenic attributes: a potential threat. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 28, n. 1, p. 77–90, 2022.

UDDLING, J.; GELANG-ALFREDSSON, J.; PIHL-KARLSSON, J.; PLEIJEL, H. Evaluating the relationship between SPAD-502 chlorophyll meter readings and chlorophyll concentration in leaves of field-grown plants. **Photosynthesis Research**, v. 91, n. 1, p. 37–46, 2007.

VOCCIANTE, M. *et al.* The Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Mitigating Plant's Environmental Stresses. **Applied Sciences**, v. 12, n. 3, p. 1231, 2022.

VURUKONDA, S. S. K. P. *et al.* Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

WANG, C. J. *et al.* Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains. **PLOS ONE**, v. 7, n. 12, p. e52565, 2012.

WANG, X. *et al.* Enhancing growth and transpiration efficiency of corn plants with compost addition and potential beneficial microbes under well-watered and water-stressed conditions. **Plant and Soil**, p. 1–19, 2025.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, v. 49, n. 1, p. 81–97, 1950.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR Protocols**, p. 315–322, 1990.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho indicam que a diversidade funcional de microrganismos isolados de ambientes hipersalinos pode contribuir para a promoção da tolerância à seca em plantas de milho. Embora a maioria dos isolados com desempenho significativo pertença à família Bacillaceae, os efeitos observados decorrem menos da diversidade taxonômica e mais da variedade de respostas fisiológicas, bioquímicas e morfofuncionais ativadas nas plantas.

Destacam-se mecanismos complementares, como a manutenção da integridade fotossintética, o acúmulo modulável de prolina e a promoção do crescimento radicular. Essa funcionalidade diversa entre os isolados reforça o potencial do uso de consórcios microbianos com perfis ortogonais, capazes de atuar de forma sinérgica na atenuação dos efeitos do estresse hídrico.

Apesar de preliminares, os achados obtidos neste estudo ampliam a compreensão sobre os efeitos de microrganismos oriundos de ecossistemas extremos na fisiologia de plantas sob déficit hídrico. Os resultados também apontam caminhos promissores para o desenvolvimento de bioinsumos mais eficientes, baseados em estratégias funcionais complementares. Ainda assim, são necessários estudos adicionais, incluindo testes em condições de campo e avaliações a longo prazo, para consolidar o uso desses microrganismos em contextos agrícolas reais.

ANEXOS

TABELA 1A. Identificação molecular dos microrganismos bacterianos e fúngicos isolados de ambientes hipersalinos.

n°	Cod. geral	Cod. isolado	Cod. experimento	Grupo	Identificação gênero
01	11	2AR1+	T11	Bactéria	<i>Virgibacillus</i> sp.
02	12	2AR3+	T12	Bactéria	<i>Halomonas</i> sp.
03	13	2AR4+	T13	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
04	15	2SR4+	T14	Bactéria	<i>Salinisphaera</i> sp.
05	16	2SR5+	T15	Bactéria	<i>Virgibacillus</i> sp.
06	51	3AR1-	T16	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
07	60	3AR1+	T17	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
08	52	3AR2-	T18	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
09	61	3AR2+	T19	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
10	53	3AR3-	T20	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
11	62	3AR3+	T21	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
12	54	3AR4-	T22	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
13	55	3SR1-	T23	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
14	64	3SR1+	T24	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
15	56	3SR2-	T25	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
16	65	3SR2+	T26	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
17	57	3SR3-	T27	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
18	66	3SR3+	T28	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
19	58	3SR4-	T29	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
20	59	3SR5-	T30	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
21	84	7AR3-	T31	Bactéria	<i>Modicisalibacter</i> sp.
22	85	7AR5-	T32	Bactéria	<i>Marinobacter</i> sp.
23	92	7SR1+	T33	Bactéria	<i>Isoptericola</i> sp.
24	86	7SR3-	T34	Bactéria	<i>Isoptericola</i> sp.
25	95	7SR4+	T35	Bactéria	<i>Vreelandella</i> sp.
26	139	10AR2-	T36	Bactéria	<i>Rossellomorea</i> sp.
27	142	10AR5-	T37	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
28	156	10AR5+	T38	Bactéria	<i>Virgibacillus</i> sp.
29	143	10SR1-	T39	Bactéria	<i>Salinicola</i> sp.
30	157	10SR1+	T40	Bactéria	<i>Vreelandella</i> sp.
31	144	10SR2-	T41	Bactéria	Em identificação
32	158	10SR2+	T42	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
33	145	10SR3-	T43	Bactéria	<i>Halomonas</i> sp.
34	146	10SR4-	T44	Bactéria	<i>Rossellomorea</i> sp.
35	159	10SR5+	T45	Bactéria	<i>Pseudalkalibacillus</i> sp.
36	179	11AR4-	T46	Bactéria	<i>Escherichia</i> sp.
37	174	11AR3+	T47	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
38	198	12AR1-	T48	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
39	200	12AR3-	T49	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
40	183	12AR3+	T50	Bactéria	<i>Priestia</i> sp.
41	201	12AR4-	T51	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
42	184	12AR4+	T52	Bactéria	<i>Marinobacter</i> sp.
43	202	12SR1-	T53	Bactéria	<i>Halomonas</i> sp.
44	186	12SR1+	T54	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
45	203	12SR2-	T55	Bactéria	<i>Halomonas</i> sp.
46	187	12SR2+	T56	Bactéria	<i>Vreelandella</i> sp.
47	188	12SR3+	T57	Bactéria	<i>Halomonas</i> sp.
48	204	12SR4-	T58	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
49	207	16AR1+	T60	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
50	211	16AR3-	T61	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
51	217	16SR2+	T62	Bactéria	<i>Virgibacillus</i> sp.
52	355	24(12%)SR1+	T76	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
53	356	24(12%)SR2+	T77	Bactéria	<i>Halobacillus</i> sp.
54	258	21(3%)AR1+	T64	Fungo	<i>Hortaea</i> sp.
55	245	21(3%)AR2-	T65	Fungo	<i>Paralaratospora</i> sp.
56	261	21(12%)AR1-	T66	Fungo	<i>Cladosporium</i> sp.
57	272	21(12%)SR1-	T67	Fungo	<i>Aspergillus</i> sp.
58	273	21(12%)SR2+	T68	Fungo	Em identificação
59	274	21(12%)SR3+	T69	Fungo	Em identificação
60	275	21(12%)SR4+	T70	Fungo	Em identificação
61	336	24(3%)SR1+	T71	Fungo	<i>Aspergillus</i> sp.
62	341	24(12%)AR1-	T72	Fungo	Em identificação
63	338	24(12%)AR1+	T73	Fungo	Em identificação
64	339	24(12%)AR2+	T74	Fungo	<i>Penicillium</i> sp.
65	340	24(12%)AR3+	T75	Fungo	Em identificação