

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Influência de consórcios bacterianos na promoção de crescimento  
de milho (*Zea mays*)**

**Heloísa Defant**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ciências. Área de concentração: Genética e  
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba  
2024**

Heloísa Defant  
Engenheira Agrônoma

**Influência de consórcios bacterianos na promoção de crescimento de milho (*Zea mays*)**  
versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:  
Profa. Dra. **MARIA CAROLINA QUECINE VERDI**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ciências. Área de concentração: Genética e  
Melhoramento de Plantas

Piracicaba  
2024

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Defant, Heloísa

Influência de consórcios bacterianos na promoção de crescimento de milho (*Zea mays*) / Heloísa Defant - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2024.

91 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Milho 2. Consórcio 3. Bactérias 4. Promoção de crescimento I. Título

Dedico este trabalho aos meus pais,  
que sempre me deram apoio em todas as minhas escolhas.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por todas as oportunidades até aqui, pela intercessão de Nossa Senhora, Santa Catarina de Alexandria e Santa Teresinha do Menino Jesus.

Agradeço aos meus pais Fabio e Edilene, minha irmã Lorena, avós e familiares pelo apoio durante todo esse tempo, em todas as decisões que tomei para que essa etapa fosse cumprida com alegria. Agradeço ao meu noivo Thiago e sua família por também fazer parte disso.

Agradeço a melhor orientadora possível, Maria Carolina Quecine, pelo apoio a todos nós, seus orientados, por nos ajudar a ser profissionais melhores e o mais importante, pessoas melhores.

Agradeço a Jessica, que esteve comigo desde o início, me ajudando em todos os momentos, desde a iniciação científica. Ao querido IC, Pedro Ozi que esteve me alegrando todos os dias por um bom período. Aos técnicos Zezo e Guilherme, pelo apoio. Ao pessoal do laboratório, Carol Haya, Mari, Renan, Ariane, Aline, Gladys, Bruna, Bruna Lopes, Everthon, Jeroen, Julia, Leandro, Mauricio, Joelma, Sandra, Victor, Isabela e Patricia pela amizade, companheirismo e ajuda durante esse tempo. Vocês são ótimos!

Agradeço aos amigos da vida, aos amigos da ESALQ. Todos os professores que contribuíram para minha formação, em especial ao prof. Miguel Morano Jr., que me apresentou ao mundo da pesquisa através do PIC Jr.

À CAPES (88887.614978/2021-00) e FAPESP (2021/11983-1) pelo suporte financeiro; aos professores e funcionários do Departamento de Genética pelo auxílio a minha formação.

Ao nosso patrono, Luiz de Queiroz e à ESALQ, por todas as oportunidades.

*“Cumpre o pequeno dever de cada momento; faz o que deves e está no que fazes”*

*São Josemaria Escrivá*

## SUMÁRIO

RESUMO .....	8
ABSTRACT .....	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
Referências .....	14
2. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE ISOLADOS BACTERIANOS OBTIDOS DE SOLO CULTIVADO COM MILHO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS .....	17
Resumo.....	17
2.1. Introdução .....	17
2.2. Materiais e Métodos .....	19
2.2.1. Isolamento bacteriano .....	19
2.2.2. Identificação molecular das linhagens bacterianas.....	20
2.2.3. Caracterização fisiológica das linhagens bacterianas .....	20
2.2.4 Ensaio de antibiose .....	21
2.2.5 Ensaio preliminar de promoção de crescimento de milho .....	22
2.2.6 Sequenciamento do gene 16S rRNA completo e identificação das espécies utilizadas no ensaio preliminar .....	22
2.2.7 Ensaio em casa de vegetação com os melhores tratamentos.....	23
2.3 Resultados .....	23
2.3.1 Isolamento, identificação e caracterização das linhagens bacterianas.....	23
2.3.2 Ensaios de antibiose, formação dos consórcios bacterianos e resultados preliminares de promoção de crescimento de plantas.....	26
2.3.3 Sequenciamento completo e dendograma das linhagens selecionadas ..	37
2.3.4 Promoção de crescimento de plantas por linhagens bacterianas isoladas de solo cultivado com milho.....	38
2.4 Discussão.....	40
Referências .....	42
3. COMPREENSÃO MOLECULAR DA INTERAÇÃO BACTERIANA EM CONSÓRCIOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS .....	49
Resumo.....	47

3.1. Introdução.....	49
3.2 Materiais e Métodos.....	51
3.2.1 Material biológico .....	51
3.2.2 Ensaio em casa de vegetação comparando consórcios .....	53
3.2.3 Ensaio em casa de vegetação com consórcio de melhor desempenho....	53
3.2.4 Análise dos genomas bacterianos .....	54
3.2.5 Comparação das características testadas in vitro e presença de genes nos genomas bacterianos.....	54
3.3 Resultados.....	56
3.3.1 Comparação entre consórcios .....	56
3.3.2 Promoção de crescimento em consórcio de origem diversa .....	56
3.3.3 Análise comparativa de genes relacionados à promoção de crescimento de plantas nos genomas bacterianos.....	57
3.3.4 Características de promoção de crescimento de plantas e presença de genes .....	60
3.4 Discussão .....	66
Referências.....	69
APÊNDICES.....	73



## RESUMO

**Influência de consórcios bacterianos na promoção de crescimento de milho (*Zea mays*)**

A microbiota associada às plantas atua por meio de diversos mecanismos visando conferir vantagens no *fitness* da planta hospedeira. Um desses mecanismos é a promoção de crescimento de plantas, que vem sendo explorada para uso comercial e aplicação na agricultura. Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) atuam direta ou indiretamente, através do fornecimento de nutrientes, produção de fitormônios, competição com patógenos e outros. Em geral o uso consorciado de bactérias apresenta melhor desempenho com relação à promoção de crescimento de plantas se comparado ao uso de linhagens separadamente graças ao aumento da resistência a efeitos adversos e a complementariedade funcional no ecossistema. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diversos consórcios bacterianos na cultura do milho. Inicialmente foram isoladas, caracterizadas e selecionadas linhagens bacterianas com potencial de promover crescimento de milho e formados consórcios com complementariedade de funções entre bactérias e de acordo com diversidade ou similaridade de táxons. Observou-se que consórcios mais diversos taxonomicamente apresentam melhor desempenho na promoção de crescimento de milho se comparados aos consórcios que utilizam apenas um gênero bacteriano, principalmente quanto aos parâmetros relacionados a parte aérea. Destacaram-se as linhagens *Arthrobacter globiformis* CNM05 e *Siphonobacter intestinalis* CNM19, que foram estatisticamente superiores em todas as variáveis para *A. globiformis* CNM05 e comprimento de parte aérea, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz para *S. intestinalis* CNM19 quando comparadas aos consórcios em que estavam inseridas. Após, foram avaliados consórcios formados por linhagens obtidas da cultura do milho e consórcio formado por linhagens obtidas de diversas fontes, que previamente já havia apresentado resultados promissores na cultura do milho. O consórcio de origem diversa apresentou melhor desempenho quando comparado aos consórcios obtidos de milho em relação ao massa seca de parte aérea, bem como foi melhor do que as linhagens aplicadas individualmente em relação ao massa seca de parte aérea e massa seca de raiz. Finalmente em relação ao consórcio diverso, composto por *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9, *Delftia acidovorans* RZ4MS18 e *Pantoea agglomerans* 33.1, foi realizado o estudo dos genes relacionados à promoção de crescimento das linhagens bacterianas e completude funcional. Com relação aos genes relacionados à promoção de crescimento de plantas presentes nas linhagens, 16% estão presentes em todas as linhagens, 43% dos genes podem ser encontrados em combinações e 41% dos genes são exclusivos de cada linhagem. Em relação a produção de auxina (AIA), comparando os resultados *in vitro* com a avaliação de presença de genes, observa-se que dentre as linhagens *A. brasilense* Ab-V5, *B. thuringiensis* RZ2MS9, *D. acidovorans* RZ4MS18 e *P. agglomerans* 33.1, apenas *D. acidovorans* RZ4MS18 e *P. agglomerans* 33.1 apresentam uma via completa dependente de triptofano para produção de AIA completa, apesar de todas as linhagens apresentarem resultado positivo no teste *in vitro*. Em relação a solubilização de fosfato, apesar de todas as linhagens apresentarem genes relacionados à solubilização de fosfato, apenas *P. agglomerans* 33.1 possui genes *phy*, codificadores de enzimas fitases, sendo também a única que apresentou resultado positivo em teste *in vitro*. Através deste trabalho, pode-se afirmar que consórcios formados por linhagens obtidas de fontes apresentam melhor desempenho que consórcios obtidos por linhagens de mesma origem. A presença de genes relacionados à uma característica em linhagens que não apresentam resultados *in vitro* quando aplicadas individualmente pode potencializar o resultado de linhagens positivas *in vitro* abrindo novas perspectivas para o estudo da interação microrganismos benéficos-planta.

Palavras-chave: Milho, BPCP, Consórcio, AIA, Solubilização de fosfato

## ABSTRACT

**Influence of bacterial consortia in maize (*Zea mays*) growth promotion**

The microbiote associated with plants acts through several mechanisms aimed at conferring advantages in the *fitness* of the host plant. One of these mechanisms is the promotion of plant growth, which has been exploited for commercial use and practical application in agriculture. Plant growth promoting bacteria (PGPBs) act directly or indirectly, through the supply of nutrients, production of phytohormones, competition with pathogens and others. In general, the bacterial consortia present better performance in relation to the promotion of plant growth when compared to the use of strains individually increasing the resistance to adverse effects and functional complementarity in the ecosystem. Thus, the present work aimed to evaluate the effect of several types of bacterial consortia on maize crop. Initially, bacterial strains with the potential to promote maize growth were isolated, characterized and selected and consortia were formed with complementarity of functions between bacteria and according to diversity or similarity of taxa. It was observed that more diverse consortia present better performance in promoting maize growth compared to consortia that use only one bacterial genus, especially in the shoot. The strains *Arthrobacter globiformis* CNM05 and *Siphonobacter intestinalis* CNM19 were statistically better in all variables for *A. globiformis* CNM05 and shoot length, shoot dry weight and root dry weight for *S. intestinalis* CNM19 when compared to the consortia in which they were inserted. Afterwards, consortia formed by strains obtained from the corn crop and a consortium formed by strains obtained from various sources, which had previously presented promising results in the maize crop, were evaluated. The consortium of diverse origin presented better performance if compared to the consortia obtained from maize in shoot dry weight, as well as was better than the strains applied individually in shoot dry weight and root dry weight. Finally, in relation to the diverse consortium, composed of *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9, *Delftia acidovorans* RZ4MS18 and *Pantoea agglomerans* 33.1, the study of genes related to growth promotion of bacterial strains was carried out. Regarding the genes related to plant growth promotion present in the strains, 16% are present in all strains, 43% of the genes can be found in combinations and 41% of the genes are unique to the strains. Comparing *in vitro* results with the evaluation of the presence of genes, it is observed that among the strains *A. brasilense* Ab-V5, *B. thuringiensis* RZ2MS9, *D. acidovorans* RZ4MS18 and *P. agglomerans* 33.1, only *D. acidovorans* RZ4MS18 and *P. agglomerans* 33.1 present a complete tryptophan-dependent pathway for the production of complete IAA, although all of them presented positive results in the *in vitro* test. For phosphate solubilization, although all strains present genes related to phosphate solubilization, only *P. agglomerans* 33.1 has *phy* genes, encoding phytase enzymes, and is also the only one that presented positive results in *in vitro* test. Through this work, it can be affirmed that consortia formed by strains obtained from sources present better performance than consortia obtained by strains of the same origin. The presence of genes related to a trait in strains that do not present *in vitro* results when applied individually can potentiate the result of positive strains *in vitro*, opening a new perspective in researches about microorganism-plant interaction.

Keywords: Maize, PGPB, Consortia, IAA, Phosphate solubilizing



## 1. INTRODUÇÃO

Os cereais milho e soja representam juntos 80% da produção de grãos no Brasil. A maior parte da produção de milho é destinada para consumo interno, porém, recentemente as exportações tem ganhado importância no Brasil. O Brasil encontra-se entre os principais países produtores de milho. A previsão para o plantio de primeira safra 2022/23, é de 4.401,7 mil hectares, 3,2% inferior à safra passada, porém com produção total de 27.240,7 mil toneladas, 8,8% superior à safra 2021/22. Quanto à produção total (primeira e segunda safra), está prevista uma produção total de 124,8 milhões de toneladas de milho, aumento de 10,4% em relação à safra passada. Além disso, espera-se aumento de 1,8% na área plantada e 8,4% na produtividade do setor (Embrapa, 2021; Conab, 2023).

A busca por alternativas sustentáveis na produção agrícola tem se intensificado junto à necessidade de aumento de produção (Batista et al., 2018). Microrganismos são muito importantes na agricultura atuando na ciclagem de nutrientes e redução da necessidade por fertilizantes (Egamberdiyeva, 2007). Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) têm sido reportadas como fator de aumento de produtividade em diversas culturas (Egamberdiyeva, 2007, Stein, 1998; Peixoto et al., 1995; Mantovanello, 1994; Luz, 1993) devido sua atuação na fertilização das culturas, velocidade de germinação de sementes, emergência de seedling, resposta a estresses externos e alteração no padrão radicular (Egamberdiyeva, 2007). Além disso, BPCPs podem atuar no controle de patógenos de trigo, milho, crucíferas e no pós-colheita (Mariano et al., 2004), demonstrando o potencial de uso de BPCPs na agricultura. Na cultura do milho, destacam-se pesquisas com as BPCPs *Bacillus* spp., *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Enterobacter*, *Arthrobacter* (Vanissa et al., 2020; Souza et al., 2015; Egamberdiyeva, 2007) além do amplo uso comercial de *Azospirillum brasilense* (Hungria et al., 2010).

As BPCPs atuam na promoção de crescimento de plantas por meios diretos e indiretos, podendo utilizar como exemplo de modo direto a facilitação da aquisição de nutrientes pelas plantas, principalmente nitrogênio e fósforo, estímulo do crescimento através da produção de fitormônios e de modo indireto, o antagonismo aos patógenos presentes no solo (Egamberdiyeva, 2007). Estudos demonstram que a comunidade microbiana associada às raízes e parte aérea de plantas também possui papel fundamental na arquitetura de plantas e modulação da plasticidade fenotípica das plantas, interferindo diretamente na resposta à estresses bióticos e abióticos (Armanhi et al., 2021).

A maioria dos estudos sobre bioinoculantes para plantas e a maioria dos produtos comerciais é baseado em uma ou poucas linhagens bacterianas. Apesar disso, estudos tem mostrado que o uso de consórcios com diferentes linhagens apresentam melhores resultados na promoção de crescimento de plantas do que linhagens utilizadas individualmente (Vanini et al., 2021; Mogal et al., 2020; Olanrewaju, Babalola, 2019; Kong et al., 2018; Armada et al., 2016; Couillerot et al., 2013; Jha, Saraf, 2012). Linhagens bacterianas podem atuar de modo sinérgico em um consórcio bacteriano e apresentar efeitos crescentes a partir da inoculação de diversas espécies (Singh et al., 2015). Além do efeito sinérgico (soma das atividades individuais contando com estímulo de ação de um microrganismo para outro), o efeito aditivo (soma das atividades) também pode ser essencial para o sucesso de consórcios bacterianos (Santoyo et al., 2021).

Como exemplo, um consórcio bacteriano formado por bactérias pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Streptomyces* e *Bacillus*, obtido através de isolamento de linhagens e screening fisiológico *in vitro* de características relacionadas à promoção de crescimento de plantas apontou melhora o crescimento de milho e pode se apresentar como um insumo para aplicação em campo (Olanrewaju, Babalola, 2019). Molina-Romero et al. (2021) apresentam um consórcio formado por *A. brasilense* Sp7, *Pseudomonas putida* KT2440, *Acinetobacter* sp. EMM02 e *Sphingomonas* sp.

OF178A como um consórcio que interage positivamente com diversas variedades comerciais de milho ao mesmo tempo que diminui pela metade a aplicação de fertilizante recomendado. A atuação de um consórcio composto por *Pseudomonas putida* KT2440, *Sphingomonas* sp. OF178, *Azospirillum brasilense* Sp7 e *Acinetobacter* sp. EMM02, apresentou em milho, incremento em massa seca de parte aérea e raízes, comprimento e diâmetro da planta se comparado aos controles não inoculados e inoculados somente com uma das bactérias. Além disso, o consórcio também apresentou mitigação dos efeitos de seca (Molina-Romero et al., 2017) (Tabela 1).

Além dos efeitos na promoção de crescimento de plantas, consórcios bacterianos formados por uma comunidade sintética diversa, predominando os gêneros *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Ensifer*, *Lysobacter*, *Pedobacter*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* e *Variovorax*, em milho apresentam eficácia na mitigação de efeitos de seca em variedade comercial da cultura (Armanhi et al., 2021). O uso de consórcio bacteriano composto por *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter* e *Pseudomonas* apresentou mais benefícios que bactérias aplicadas isoladamente em plantas de milho em condição de seca (Saleem et al., 2021). Além de atuar na promoção de crescimento de plantas e mitigação do estresse por salinidade, o consórcio bacteriano formado por *Pseudomonas* sp. P8, *Peribacillus* sp. P10 e *Streptomyces* sp. X52 também influencia a comunidade microbiana na rizosfera de milho, recrutando outras bactérias benéficas (Peng et al., 2021) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Consórcios bacterianos e seus efeitos na cultura do milho

Gêneros	Efeito	Referência
<i>Pseudomonas</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Bacillus</i>	Promoção de crescimento de planta	Olanrewaju, Babalola (2019)
<i>Azospirillum</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Sphingomonas</i>	Promoção de crescimento de planta, redução no uso de fertilizantes, mitigação de efeitos de seca	Molina-Romero et al. (2017, 2021)
<i>Agrobacterium</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Ensifer</i> , <i>Lysobacter</i> , <i>Pedobacter</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Variovorax</i>	Mitigação de efeitos de seca	Armanhi et al. (2021)
<i>Bacillus</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i>	Mitigação de efeitos de seca	Saleem et al. (2021)
<i>Pseudomonas</i> , <i>Peribacillus</i> , <i>Streptomyces</i>	Mitigação de efeitos de salinidade, promoção de crescimento de planta, recrutamento de rizobactérias	Peng et al. (2021)

Dado a necessidade de avançar na compreensão do potencial dos consórcios bacterianos na cultura do milho, o presente trabalho visou explorar a diversidade microbiana da comunidade nativa de solos para o desenvolvimento de um consórcio bacteriano.

Baseado no apresentado acima, foram levadas algumas hipóteses: i) linhagem em consórcio apresentem melhor desempenho que linhagens utilizadas separadamente e os consórcios formados por táxons diversos apresentam melhor desempenho na promoção de crescimento de plantas do que os compostos por táxons

semelhantes; ii) consórcios formados por linhagens obtidas de locais distintos apresentam melhor desempenho na promoção de crescimento de plantas do que consórcios formados por linhagens obtidas da mesma fonte.

Assim, o presente estudo, no primeiro capítulo, buscou obter um consórcio bacteriano promotor de crescimento de milho a partir da caracterização fisiológica *in vitro* de linhagens bacterianas isoladas de solo de milho. Foram avaliados potenciais consórcios compostos por táxons diversos e táxons semelhantes. Dessa forma, foram isoladas e identificadas linhagens bacterianas de solo de área cultivada com milho no Departamento de Genética na ESALQ. Foram obtidas 45 linhagens, posteriormente caracterizadas quanto sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, solubilizar fosfato, produzir ácido indol acético (AIA), produzir sideróforos, ACC desaminase, exopolissacarídeos, formação de biofilme e inibição de crescimento do patógeno de milho *Dickeya zea*. Em seguida, foram selecionadas as linhagens que apresentaram complementariedade de funções fisiológicas e capazes de crescerem juntas, sem inibição. Foram escolhidos dois consórcios diversos quanto aos gêneros que o compõe, um composto apenas por linhagens do gênero *Bacillus* e outro formado por linhagens do gênero *Priestia*. O primeiro consórcio foi formado por *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05, *Siphonobacter* sp. CNM19 e *Priestia* sp. CNM25; o segundo, *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05, *Siphonobacter* sp. CNM19, *Priestia* sp. CNM25 e *Bacillus* sp. CNM34. O consórcio *Bacillus* foi formado por *Bacillus* sp. CNM13, *Bacillus* sp. CNM34, *Bacillus* sp. CNM39 e *Bacillus* sp. CNM42. O consórcio *Priestia* foi formado por *Priestia* sp. CNM14, *Priestia* sp. CNM25 e *Priestia* sp. CNM35. Também utilizou-se o consórcio controle formado por *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9, *Pantoea agglomerans* 33.1, *Delftia acidovorans*. RZ4MS18 e *Azospirillum brasilense* Ab-V5 (consórcio do laboratório) já caracterizado em outro estudo (Yassue et al., 2021).

Em experimento em casa de vegetação com as linhagens selecionadas combinadas de todas as formas possíveis (individuais, em duplas, trios e todas juntas) observou-se melhores resultados nos tratamentos CNM02, CNM05, CNM19, CNM02 + CNM05 e CNM02 + CNM34 com incremento em comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea e massa seca de raízes de até 25%, 25%, 55% e 16% respectivamente comparado ao tratamento controle. Nem todas as combinações foram favorecidas com o incremento de linhagens. As melhores linhagens foram utilizadas em novo experimento em casa de vegetação. No novo experimento, agora utilizando também o consórcio controle, verificou-se novamente bom desempenho das linhagens CNM05 e CNM19. Entre os consórcios, destaca-se o consórcio controle (Yassue et al., 2021) e CNM02 + CNM05 + CNM19 + CNM25. Desse modo, a hipótese relacionada à variabilidade de táxons é confirmada quando demonstrado o maior potencial de promover crescimento de plantas pelo consórcio diverso. Por outro lado, não é possível confirmar a hipótese de que linhagens em consórcio são melhores promotores de crescimento de plantas que as linhagens utilizadas individualmente, já que CNM05 e CNM19 foram os melhores tratamentos observados em casa de vegetação. Assim, a hipótese de que consórcios diversos apresentam melhor desempenho é confirmada, enquanto que a hipótese relacionada ao melhor desempenho de consórcios se comparados às bactérias aplicadas isoladamente não pôde ser confirmado.

No segundo capítulo, são comparados consórcios com linhagens de mesma origem (formados pelas CNMs) e consórcio com linhagens de origem diversa (o consórcio controle), esperando que o consórcio de mesma origem apresente melhor desempenho na promoção de crescimento de plantas de milho (Armanhi et al., 2018; Kong et al., 2018). Também foram comparadas as bactérias sozinhas e em consórcio daquele que apresentou melhor desempenho no primeiro experimento, esperando que o consórcio apresentasse melhor desempenho que as bactérias utilizadas isoladamente (Wang et al., 2022). Por fim, realizou-se o estudo dos genes relacionados à promoção de crescimento de plantas em cada uma das linhagens que compõe tal consórcio, esperando observar

complementariedade de funções entre as linhagens (Kumar et al., 2022; Subramaniam et al., 2020). Ao contrário do esperado, o consórcio formado por linhagens obtidas de diferentes locais apresentou melhor desempenho na promoção de crescimento de plantas, bem como ocorre ao comparar o consórcio com as linhagens utilizadas individualmente, onde observa-se melhor desempenho do consórcio. Com relação à complementariedade de genes relacionados às funções de promoção de crescimento de plantas, observa-se que as quatro linhagens possuem 104 genes em comum entre todas elas. *D. acidovorans* RZ4MS18 apresenta 50 genes exclusivos, *B. thuringiensis* RZ2MS9 apresenta 57 genes exclusivos, *P. agglomerans*, 80 genes exclusivos e *A. brasilense* Ab-V5, 89 genes exclusivos podendo ser indicativo da complementariedade de funções de promoção de crescimento.

Finalmente, é evidente a complexidade da interação entre bactérias e a planta-hospedeira. A seleção de bactérias com potencial de promoção de crescimento de plantas através de *screening* fisiológico é a primeira etapa, bem consolidada para o desenvolvimento de inoculantes. Como segunda etapa, a repetição de experimentos em casa de vegetação, experimentos de campo e estudos em diversos locais com características edafoclimáticas diferentes são essenciais para obter resultados consistentes e replicáveis, além de estudos moleculares da interação consórcio-planta.

## Referências

- Armada, E., Probanza, A., Roldán, A., Azcón, R. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. *Journal of Plant Physiology*. Mar, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.007>
- Armanhi, J. S. L., Souza, R. S. C., Biazotti, B. B., Yassitepe, J. E. C. T., Arruda, P. Modulating drought stress response of maize by a synthetic bacterial community. *Front. Microbiol.* 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.747541>
- Batista, B. D.; Lacava, P. T.; Ferrari, A.; Teixeira-silva, N. S.; Bonatelli, M. L.; Tsui, S.; Mondin, M.; Kitajima, E. W.; Pereira, J. O.; Azevedo, J. L. Screening of tropically derived, multi-trait plant growth-promoting rhizobacteria and evaluation of corn and soybean colonization ability. *Microbiological Research*, [s.l.], v. 206, p.33-42, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.007>.
- Conab. Acompanhamento safra brasileira de grãos, Brasília. V.10 – Safra 2022/23, n. 7 – Sétimo levantamento, p. 1-106, abril 2023.
- Couillerot, O., Ramírez-Trujillo, A., Walker, V., Von Felten, A., Jansa, J., Maurhofer, M., Défago, G., Prigent-Combaret, C., Comte, G., Caballero-Mellado, J., Moënne-Loccoz, Y. Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum*–*Pseudomonas*–*Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Appl Microbiol Biotechnol* 97, 4639–4649 (2013). <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4249-z>
- Egamberdiyeva, D. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology*. 2007. doi:10.1016/j.apsoil.2007.02.005
- Embrapa – Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Trilha tecnológica: Milho. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agrossilvipastoril/sitiotecnologico/trilhatecnologica/tecnologias/culturas/milho#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20brasileira%20de%20milho%20tem%20como%20destino,ciclo%20pode%20variar%20de%2090%20a%20120%20dias>. Acesso em 31 de maio de 2021.
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., Pedrosa, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant soil*, 2010. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>

- Jha, C. K., Saraf, M. Evaluation of Multispecies Plant-Growth-Promoting Consortia for the Growth Promotion of *Jatropha curcas* L.. *J Plant Growth Regul* 31, 588–598 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9269-5>
- Kong, Z., Hart, M., Liu, H. Paving the way from the lab to the field: using synthetic microbial consortia to produce high-quality crops. *Front. Plant Sci.*, Oct. 2018. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01467>
- Kumar, P., Rani, S., Dahiya, P., Kumar, A., Dang, A. S., Suneja, P. Whole genome analysis for plant growth promotion profiling of *Pantoea agglomerans* CPHN2, a non-rhizobial nodule endophyte. *Front. Microbiol.*, 2022. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.998821>
- Luz, W. C. Controle microbiológico do mal-do-pé do trigo pelo tratamento de sementes. *Fitopatologia Brasileira*, 13, p 82-85, 1993.
- Mantovanello, C. M.; Melo, I. S. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). *Summa Phytopathologica* 20:123-126. 1994.
- Mariano, R. L. R.; Silveira, E.B.; Assis, S. M. P.; Gomes, A. M. A.; Nascimento, A. R. P.; Donato, V. M. R. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. In: ANAIS DA ACADEMIA PERNAMBUCANA DE CIÊNCIA AGRÔNOMICA, 1., 2004, Recife. Anais [...]. Recife: Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, 2004. v. 1, p. 89 - 111.
- Mogal, S. C., Jha, S., Suthar, H., Parekh, V., Rajkumar, B. K. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) consortia for modulation of phytohormone and better nutrient acquisition. *Pla. Sci.*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.32439/ps.v3i4.20-29>
- Molina-Romero, D., Baez, A., Quintero-Hernández, V., Casteñeda-Lucio, M., Fuentes-Ramírez, L. E., Bustillos-Cristales, M. R., Rodríguez-Andrade, O., Morales-García, Y. E., Munive, A., Muñoz-Rojas, J. Compatible bacterial mixture, tolerant to desiccation, improves maize plant growth. *Plos one*. 2017. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187913>.
- Molina-Romero, D., Juárez-Sánchez, S., Venegas, B., Ortíz-González, C., Baez, A., Morales-García, Y. E., Muñoz-Rojas, J. A bacterial consortium interacts with different varieties of maize, promotes the plant growth, and reduces the application of chemical fertilizer under field conditions. *Front. Sustain. Food Syst.* 2021. Doi: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.616757>
- Olanrewaju, O. S., Babalola, O. O. Bacterial Consortium for Improved Maize (*Zea mays* L.) Production. *Microorganisms* 2019. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110519>
- Peixoto, A. R., Mariano, R. L. R., Michereff, S. J. & Oliveira, S. M. A. Ação antagônica de *Pseudomonas aeruginosa* a *Pseudomonas solanacearum* e efeito no desenvolvimento de plântulas de tomate. *Summa Phytopathologica* 21:219-224. 1995.
- Peng, J., Ma, J., Wei, X., Zhang, C., Jia, N., Wang, X., Wang, E. T., Hu, D., Wang, Z. Accumulation of beneficial bacteria in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) grown in a saline soil in responding to a consortium of plant growth promoting rhizobacteria. *Annals of Microbiology*. 2021. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01650-8>
- Saleem, M., Nawaz, F., Hussain, M. B., Ikram, R. M. Comparative effects of individual and consortia plant growth promoting bacteria on physiological and enzymatic mechanisms to confer drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2021. Doi: <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00620-y> *Bras. Cienc. Solo* 24, 311-319. 2000.



- Santoyo, G.; Guzmán-Guzmán, P.; Parra-Cota, F. I.; Santos-Villalobos, S. d.l.; Orozco-Mosqueda, M. d.C.; Glick, B. R. Plant Growth Stimulation by Microbial Consortia. *Agronomy* 2021. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>
- Singh, M., Awasthi, A., Soni, S., Singh, R., Verma, R. K., Kalra, A. Complementarity among plant growth promoting traits in rhizospheric bacterial communities promotes plant growth. *Sci Rep.*, 2015. doi: <https://doi.org/10.1038/srep15500>
- Souza, R., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet Mol Biol.* 2015. doi: 10.1590/S1415-475738420150053
- Stein, R.L.B. Efeito de *Pseudomonas* spp. fluorescentes no controle in vitro de fungos do solo e no desenvolvimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Dissertação de Mestrado). Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 1988
- Subramaniam, G., Thakur, V., Saxena, R. K., Vadlamudi, S., Purohit, S., Kumar, V., Rathore, A., Chitikineni, A., Varshney, R. L. Complete genome sequence of sixteen plant growth promoting *Streptomyces* strains. *Sci Rep.*, 2020. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67153-9>
- Vanini, C., Domingo, G., Fiorilli, V., Seco, D. G., Novero, M., Marsoni, M., Wisniewski-Dye, F., Bracale, M., Moulin, L., Bonfante, P. Proteomic analysis reveals how pairing of a mycorrhizal fungus with plant growth promoting bacteria modulates growth and defense in wheat. *Plant, Cell & Environment.* 2021. doi: <https://doi.org/10.1111/pce.14039>
- Vanissa, T. T. G., Berger, B., Patz, S., Becker, M., Tureckova, V., Novák O., Tarkwská, D., Henri, F., Ruppel, S. The response of maize to inoculation with *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. in phosphorous-deficient, salinity-affected soil. *Microorganisms.* 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071005>
- Wang, Y., Liu, H., Shen, Z., Miao, Y., Wang, J., Jiang, X., Shen, Q., Li, R. Richness and antagonistic effects co-affect plant growth promotion by synthetic microbial consortia. *Applied Soil Ecology.* 2022 <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104300>
- Yassue, R. M.; Carvalho, H. F.; Gevartosky, R.; Sabadin, F.; Souza, P. H.; Bonatelli, M. L.; Azevedo, J. L.; Quecine, M. Q.; Fritsche-Neto, R. On the genetic architecture in a public tropical maize panel of the symbiosis between corn and plant growth-promoting bacteria aiming to improve plant resilience. *Molecular breeding.* 2021. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11032-021-01257-6>.

## 2. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE ISOLADOS BACTERIANOS OBTIDOS DE SOLO CULTIVADO COM MILHO NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

### Resumo

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) na agricultura pode ser uma solução para substituir o uso de fertilizantes por meio de seu potencial de fornecer nutrientes e atuar na mitigação de estresses bióticos e abióticos. Consórcios bacterianos são cada vez mais explorados para amplo uso na agricultura, pois têm potencial de atuar nas plantas suprimindo a necessidade de nutrientes, na competição com patógenos, indução de resistência sistêmica e outras características relacionadas à promoção de crescimento. De maneira geral, consórcios contendo variedade de táxons apresenta melhores resultados em comparação aos consórcios que utilizam linhagens de apenas um gênero bacteriano, devido ao aumento da resistência a efeitos adversos e complementariedade de funções no ecossistema. Assim, o objetivo do presente estudo foi comparar a eficiência na promoção de crescimento de milho entre consórcios bacterianos e a aplicação de bactérias utilizadas individualmente. Foram obtidas 45 linhagens bacterianas de solo cultivado com milho e por meio de um screening fisiológico para observação de características relacionadas à promoção do crescimento de plantas (produção de AIA, solubilização de fosfato, produção de sideróforos, fixação biológica de nitrogênio, produção de ACC desaminase, produção de exopolissacarídeos, formação de biofilme e inibição do crescimento do patógeno *Dickeya zea*), foram selecionadas as linhagens com maior potencial de promoção de crescimento de plantas. As linhagens foram identificadas em nível de gênero, sendo observada uma abundância do gênero *Bacillus*, seguida de *Streptomyces*, *Priestia*, *Siphonobacter* e *Arthrobacter*, *Amycolatopsis* e *Paenibacillus*. Os consórcios bacterianos foram construídos visando juntar linhagens com funções de promoção de crescimento complementares e diferentes níveis de variação taxonômica. Entre os consórcios selecionados, observou-se melhor desempenho na promoção de crescimento de milho nos tratamentos do consórcio diverso, com destaque na parte aérea, incremento de 16% no comprimento de parte aérea e 36% no massa seca de parte aérea em relação ao controle, comparado aos consórcios formados apenas por *Bacillus* ou por *Priestia*, incremento de 11% em comprimento de parte aérea 44% em massa seca de parte aérea porém resultado negativos em relação às raízes e até 13% de comprimento de parte aérea e 21% de massa seca de parte aérea respectivamente em relação ao controle, respectivamente. Apesar do bom desempenho dos consórcios, as linhagens *Arthrobacter globiformis* CNM05 e *Siphonobacter intestinalis* CNM19 individuais foram melhores comparadas aos seus respectivos consórcios, apresentando aumentos de 12 a 73% e 4 a 62% nas variáveis avaliadas respectivamente e ao controle sem bactéria, sendo CNM05 estatisticamente melhor em todas as variáveis avaliadas e CNM19 variando entre os consórcios em que está presente, mas semelhante ao desempenho de CNM05. A influência de ambas linhagens pode ser observada quando adicionadas à grande parte dos consórcios que passam a apresentar melhor desempenho na promoção de crescimento de milho. *Arthrobacter* é um gênero já descrito como promotor de crescimento de plantas, porém, *Siphonobacter* é um gênero relativamente novo, pouco explorado e que merece atenção em estudos futuros.

**Palavras-chave:** BPCP, bactéria, consórcio, milho.

### 2.1. Introdução

A revolução verde do século XX baseou-se no uso de produtos químicos visando melhorar a produtividade das áreas cultivadas, porém, seu uso apresenta um alto custo ambiental. A demanda crescente por fibras, energia e alimentos, a necessidade de produzir de modo mais sustentável e a perda de áreas agricultáveis por marés em ascensão, erosão, salinização e desertificação faz com que seja necessária uma nova revolução verde, dessa vez, utilizando soluções baseadas no que já é de ocorrência natural e mais sustentáveis (Backer et al., 2018).

No início do século XX, começou o uso de bactérias na agricultura, mais especificamente em leguminosas (Backer et al., 2018). Atualmente, diversos gêneros bacterianos como *Acinetobacter*, *Actinobacteria*, *Agrobacteriu*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azoarcus*, *Azobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Diazotrophicus*, *Frankia*, *Glomus*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Serratia* e *Thiobacillus* já são utilizados na agricultura e/ou utilizados em pesquisas científicas como possíveis inoculantes (Mogal et al., 2020; Backer et al., 2018).

As plantas regulam a atividade da comunidade bacteriana cuidadosamente por meio de exsudatos, atraindo padrões diversos e únicos de colonização microbiana. Ao mesmo tempo, as bactérias geram benefícios para as plantas por meio de melhorias na aquisição de nutrientes pela planta, melhora na textura do solo, modulação de moléculas extracelulares (fitormônios, metabólitos secundários, antibióticos, compostos de sinalização), resistência a estresses bióticos e abióticos, indução de resistência sistêmica, competição por nicho e nutrientes culminando na promoção de crescimento vegetal, melhora na tolerância à estresses abióticos e conseqüentemente, na substituição total ou parcial de insumos químicos. De todas as bactérias associados às plantas, a comunidade associada à raiz é a mais populosa e complexa. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) surgem na agricultura como uma nova alternativa, capaz de fornecer nutrientes, competir com patógenos e auxiliar plantas em condições de estresses abióticos (Mogal et al., 2020; Backer et al., 2018; Hassani et al., 2018; Souza et al., 2015).

O sucesso e eficiência de BPCPs como inoculantes agrícolas é dependente de diversos fatores, dentre os quais, a capacidade das bactérias em colonizar raízes vegetais, exsudação de raízes, modulação da expressão de genes e comunicação celular via quorum sensing (Souza et al., 2015).

Em milho, linhagens endofíticas de *Bacillus* spp. apresentaram diferentes características de promoção de crescimento, como produção de sideróforos e efeito contra o crescimento de diversos patógenos (*Fusarium verticillioides*, *Colletotrichum graminicola*, *Bipolaris maydis* e *Cercospora zea-maydis*) (Souza et al., 2015). Os gêneros *Pseudomonas*, *Mycobacterium* e *Enterobacter* também apresentaram efeito na promoção de crescimento de milho (Egamberdiyeva, 2007). Em solo afetado por salinidade e deficiente em fósforo, *Arthrobacter* e *Bacillus* foram gêneros importantes para diminuir o estresse à salinidade e aumentar a absorção de fósforo (Vanissa et al., 2020). Na cultura do milho, a BPCP *Azospirillum brasilense* tem sido utilizada amplamente (Hungria et al., 2010). Além da cultura do milho, diversos grupos de pesquisa têm buscado possíveis BPCPs para inoculação em culturas como sorgo, melão, girassol e outras (Bonfim et al., 2020) sendo diversos os gêneros bacterianos pesquisados (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Hartmannibacter*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Sphingomonas*, *Curtobacterium*, *Dietzia*, *Serratia*, *Klebsiella*, entre outras) (Kumar et al., 2020).

É conhecido que a alta diversidade microbiana inoculante pode aumentar o desempenho da promoção de crescimento se comparado com a inoculação de linhagens individualmente (Wang et al., 2022; Vanini et al., 2021; Mogal et al., 2020; Olanrewaju, Babalola, 2019; Kong et al., 2018; Korir et al., 2017; Santiago et al., 2017; Armada et al., 2016; Couillerot et al., 2013; Hungria e Megías, 2013; Jha, Saraf, 2012). De maneira geral, a diversidade de táxons contribui para melhores resultados em comparação aos consórcios que utilizam linhagens de apenas um gênero bacteriano, como observado com frequência em pesquisa realizadas com leguminosas envolvendo a co-inoculação de *Bradyrhizobium* ou *Rhizobium* com outros gêneros bacterianos (Mogal et al., 2020; Souza et al., 2015). A biodiversidade possivelmente aumenta a habilidade das comunidades de resistir a efeitos adversos e com o aumento da similaridade ecológica, rende aumentar o nível de antagonismo (Wang et al., 2022). Outro ponto a se considerar é que membros diversos em comunidades sintéticas apresentam efeito de complementariedade de funções no ecossistema (Wang et al., 2022).

O desenvolvimento de inoculantes eficientes é um grande desafio e a competição com produtos de amplo espectro capazes de alterar a comunidade microbiana do solo diminui a eficiência de colonização em condições de campo. Além disso, há pouca integração entre o melhoramento genético de plantas e o estudo do microbioma (Backer et al., 2018). A comunidade microbiológica é afetada por fatores abióticos e do hospedeiro (Agler et al., 2016) como o tipo de solo, genótipo do hospedeiro, sistema imune da planta, variação nos estágios de desenvolvimento da planta, clima, entre outros (Hassani et al., 2018). Desse modo, muitas BPCPs apresentam bons

resultados em laboratório, mas acabam falhando em campo devido a competição com outras bactérias para colonização de raízes e características edafoclimáticas do local de aplicação (Amaya-Gómez et al., 2020; Hassani et al., 2018).

Para melhor precisão nos resultados, é ideal verificar as características relacionadas à promoção de crescimento de plantas, bem como a capacidade de colonização, avaliada através da capacidade de produzir biofilme. Em seguida, avaliar em planta parâmetros relacionados ao crescimento (tamanho de raiz, massa seca da planta, produtividade) inicialmente em casa de vegetação (Amaya-Gómez et al., 2020).

Assim, o objetivo do presente estudo foi comparar a eficiência na promoção de crescimento de plantas entre consórcios e bactérias aplicadas individualmente. Uma coleção de 45 isolados bacterianos obtidos de solo cultivado com milho no campo experimental do Departamento de Genética (ESALQ/USP) foram avaliados quanto suas características fisiológicas relacionadas à promoção de crescimento de plantas. Em seguida, foram selecionadas as melhores linhagens devidamente identificadas ao nível de gênero e construídos consórcios bacterianos visando obter complementariedade de funções entre linhagens. Novo ensaio foi desenvolvido com as linhagens que apresentaram melhor desempenho. Verificou-se que entre os consórcios selecionados os que apresentaram melhor desempenho entre todos os consórcios foram os mais diversos taxonomicamente principalmente nas variáveis relacionadas à parte aérea das plantas. Nas raízes, não houve diferença estatística significativa ou o controle apresentou melhor resultado. Apesar dos bons resultados obtidos nos consórcios diversos taxonomicamente, as linhagens *Arthrobacter globiformis* CNM05 e *Siphonobacter intestinalis* CNM19 apresentaram melhores resultados aplicadas individualmente em todas as variáveis se comparadas aos consórcios. Destaca-se o melhor desempenho da linhagem CNM19 no consórcio diverso taxonomicamente com a linhagem *Streptomyces viridochromogenes* CNM02. No consórcio diverso taxonomicamente onde *S. viridochromogenes* CNM02 é substituída por *A. globiformis* CNM05, há menor destaque para *S. intestinalis* CNM19, já que as médias de todas as variáveis avaliadas para *A. globiformis* CNM05 são as maiores dentre todos os tratamentos. A influência de ambas linhagens pode ser observada quando adicionadas à grande parte dos consórcios duplos, triplos e no consórcio completo. *Arthrobacter* é um gênero já descrito como promotor de crescimento de plantas, porém, *Siphonobacter* é um gênero relativamente novo, pouco explorado. Observamos a importância da diversidade de táxons para maior contribuição na promoção de crescimento de plantas se comparado aos consórcios de menor diversidade. Destaca-se também os gêneros bacterianos ainda pouco explorados como potenciais bioinsumos e que podem assumir papel importante para o desenvolvimento da agricultura mais sustentável.

## 2.2. Materiais e Métodos

### 2.2.1. Isolamento bacteriano

As linhagens bacterianas foram obtidas a partir de uma amostra composta de solo de milho coletada na área experimental do Departamento de Genética (ESALQ-USP) (22°42'27,0"S 47°38'11,4"O) no dia 21 de janeiro de 2020. Na semana de 14 de janeiro a 21 de janeiro de 2020, a temperatura média foi de 25,9 °C, sendo a mínima 19,6 °C e a máxima 32,3 °C; a precipitação acumulada do período foi de 15,2 mm, e a umidade relativa do ar média de 77,53%. Amostras de 1 g de solo foi utilizada para preparar uma diluição de 1:10 (10<sup>-1</sup>) em tampão PBS autoclavado com homogeneização por agitação a 150 rpm por 20 minutos a 28°C. A partir desta mistura, foram preparadas as diluições e em seguida, 100 µL das diluições foram plaqueadas em meio de cultura Tryptone Soya Agar (TSA) a 10% e incubadas por 72 horas em BOD a 28°C. Após o crescimento, as colônias morfológicamente diferentes foram selecionadas, purificadas por estrias de esgotamento e identificadas pelo prefixo CNM (Comunidade Nativa de

Milho). As linhagens foram cultivadas em meio líquido TSA 100% por 24 h foram adicionadas a glicerol 15% autoclavado e então estocadas em freezer -80°C.

### 2.2.2. Identificação molecular das linhagens bacterianas

As linhagens foram cultivadas em 5 mL de meio TSB líquido sob agitação constante (150 rpm) por 48 horas a 28 °C. O DNA das linhagens foi extraído utilizando o kit DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen®) seguindo as recomendações do fabricante. O 16S rRNA parcial foi amplificado por PCR utilizando-se os primers R1387 (5'-CGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG-3') e PO27F (5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') (Heuer et al., 1997).

Os produtos de PCR do gene 16S rRNA foram purificados utilizando o kit GFXTM PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare). O sequenciamento foi realizado com os primers 1387R e PO27F no equipamento Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems), no Laboratório de Melhoramento de Plantas (CENA-USP). A identificação das linhagens a nível de gênero foi realizada pela análise das seqüências consenso no software Geneious Prime®.

### 2.2.3. Caracterização fisiológica das linhagens bacterianas

As análises de fixação biológica de nitrogênio, produção de auxina, solubilização de fosfato, produção de sideróforos, produção de aminociclopropano-1-carboxilato desaminase (ACC desaminase), produção de exopolissacarídeos (EPS), formação de biofilme e controle do patógeno *Dickeya zea* foram feitas a partir de pré-inóculo dos isolados em meio TSB líquido, incubados a 28°C por 24 horas. Também foi avaliada a linhagem *Pantoea agglomerans* 33.1 (Quecine et al., 2012) como controle positivo. A inoculação dos isolados e da linhagem controle dos meios específicos de teste foi feita de forma padronizada com OD<sub>600 nm</sub> = 0,1 (aproximadamente 10<sup>8</sup> células por ml) após diluição dos pré-inóculos em solução NaCl 0,9%.

#### 2.2.3.1. Fixação biológica de nitrogênio

As linhagens foram cultivadas em meio semi-sólido isento de nitrogênio descrito por Döbereiner et al. (1995). Após 96 h de incubação a 28 °C no escuro, a formação de um filme de crescimento perto da superfície do meio indica resultado positivo para a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico.

#### 2.2.3.2 Produção de auxina (ácido indol-3-acético – AIA)

A produção de AIA pelas linhagens foi avaliada de acordo com o método quantitativo descrito por Husen (2013) adaptado de Bric et al. (1991). As linhagens foram cultivadas em meio TSB líquido 10% suplementado com L-triptofano 5 mM no escuro por 72 horas em agitador a 150 rpm e 28 °C. Após, o sobrenadante foi misturado com 1 mL do reagente de Salkowski e a produção de AIA pelas linhagens foi estimada utilizando um modelo de regressão linear com base em uma curva-padrão de concentrações definidas de AIA à OD<sub>530nm</sub>.

#### 2.2.3.3 Solubilização de fosfato

A capacidade das linhagens de solubilizar fosfato inorgânico foi indicada por meio da formação de halo de solubilização obtido após o cultivo da linhagem em meio de fosfato descrito por Verma et al. (2001) a 28 °C por 10 dias. A razão entre o diâmetro do halo (cm) e o diâmetro da colônia (cm) foi estimada gerando um índice enzimático

de solubilização de fosfato (ISF) que possibilita a classificação das bactérias em três categorias: baixa ( $ISF < 2$ ), média ( $2 \leq ISF \leq 3$ ) e alta ( $ISF > 3$ ), segundo Silva Filho e Vidor (2000).

#### 2.2.3.4 Produção de sideróforos

O potencial de produção de sideróforos foi avaliado pela capacidade das linhagens de produzir uma zona alaranjada em meio ágar CAS (chrome azurol S; Schwyn e Neilands, 1987). As linhagens foram inoculadas em placas de meio CAS e incubadas a 28°C por 48 horas.

#### 2.2.3.5 Produção de ACC desaminase

A avaliação da capacidade de produção de ACC desaminase pelas linhagens foi realizada em meio mínimo contendo ACC como única fonte de nitrogênio de acordo com metodologia proposta por Glick (1995). O crescimento das linhagens em meio suplementado com ACC indicou sua capacidade de produzir ACC desaminase.

#### 2.2.3.6 Produção de exopolissacarídeos

A avaliação de produção de exopolissacarídeos (EPS) foi realizada de acordo com metodologia de Guimarães et al. (1999) através da inoculação de alíquotas em papel filtro esterilizados na superfície do meio de cultura, onde a formação de uma camada mucoide indica a produção de EPS. A confirmação foi baseada em metodologia proposta por Paulo et al. (2012) através da mistura da camada mucoide com etanol absoluto e observação da formação de precipitado.

#### 2.2.3.7 Formação de biofilme

A capacidade de formação de biofilme foi avaliada de acordo com metodologia adaptada de Kwasny e Opperman (2010) sendo mensurada a solubilização do cristal violeta. A intensidade de coloração do cristal violeta é proporcional à quantidade de biofilme formado.

#### 2.2.3.8 Controle do patógeno *Dickeya zeae*

Realizou-se ensaio de antibiose de acordo com a metodologia proposta por Doan et al. (2006) visando verificar a capacidade das linhagens bacterianas em inibir o crescimento in vitro do patógeno de milho *Dickeya zeae*.

### 2.2.4 Ensaio de antibiose

Os consórcios foram formados com base na seleção de linhagens bacterianas previamente caracterizadas quanto a atributos relacionados à promoção de crescimento. A partir desse levantamento de dados, realizou-se a seleção das linhagens que apresentam complementaridade de funções seguido do ensaio de antibiose de acordo com a metodologia proposta por Doan et al. (2006). Todas as linhagens avaliadas foram normalizadas à OD<sub>600nm</sub> 0,1 (aproximadamente 10<sup>8</sup> células por ml), em seguida, cada linhagem testada foi distribuída pela superfície da placa contendo meio TSB. Após secagem, as outras linhagens testadas foram inoculadas à mesma OD. Foram selecionadas para etapas seguintes as linhagens que não apresentarem antibiose entre si.

### 2.2.5 Ensaio preliminar de promoção de crescimento de milho

Com as linhagens selecionadas, realizou-se um experimento preliminar em casa de vegetação. Os tratamentos utilizados foram formados por linhagens individuais, duas a duas, três a três e quatro a quatro, de acordo com a quantidade de bactérias do consórcio visando avaliar todas as combinações possíveis, além do controle sem inoculação, totalizando 44 tratamentos com 13 repetições cada. Em bandejas de semeadura e utilizando substrato comercial, foram semeadas três sementes de milho da variedade DKB390 PRO Dekalb (híbrido precoce; altura de planta de 2,25 a 2,45 m; altura da espiga de 1,25 a 1,40 m; arquitetura foliar semi-ereta; grão de coloração amarelo alaranjado e textura semi-duro) em cada célula da bandeja seguido de inoculação de 500 µl de suspensão bacteriana em tampão PBS à OD<sub>600nm</sub> = 0,1 (aproximadamente 10<sup>8</sup> células por ml) por semente. Uma semana após a semeadura realizou-se a contagem de sementes germinadas, o desbaste das plantas mantendo apenas uma por célula e nova inoculação de 500 µl de suspensão bacteriana em tampão PBS na mesma concentração. No caso dos consórcios, realizou-se a padronização de cada linhagem individualmente, seguido de misturas com a mesma quantidade de cada linhagem, gerando um inoculante final contendo de duas a quatro linhagens.

A amostragem do material foi realizada duas semanas após a semeadura e foram obtidas a altura de parte aérea, comprimento de raízes, massa seca de parte aérea e massa seca de raízes. Realizou-se o teste Scott-Knott para cada uma das variáveis e de modo complementar, observou-se quais tratamentos apresentaram três ou quatro variáveis com valores melhores que o controle.

### 2.2.6 Sequenciamento do gene 16S rRNA completo e identificação das espécies utilizadas no ensaio preliminar

As linhagens selecionadas para o experimento em casa de vegetação tiveram o gene 16S rRNA sequenciado completamente para a identificação a nível de espécie através de dendograma. Os *primers* utilizados foram os listados na Tabela 1.

**Tabela 1.** *Primers* utilizados no sequenciamento completo do gene 16S rRNA.

<i>Primer</i>	Direção	Sequência	Referência
16R339	<i>Reverse</i>	ACT GCT GCC TCC CGT AGG AG	Thompson et al., 2001
POF27F	<i>Forward</i>	GAG AGT TTG ATC CTG GCT GAC	Heuer et al., 1997
16F358	<i>Forward</i>	CTC CTA CGG GAG GCA GT	Thompson et al., 2001
R1387	<i>Reverse</i>	CGG TGT GTA CAA GGC CCG GGA ACG	Heuer et al., 1997
16F926	<i>Forward</i>	AAC TCA AAG GAA TTG ACG G	Thompson et al., 2001
16F1241	<i>Forward</i>	GCT ACA CAX ACG TGC TAC AAT G	Thompson et al., 2001

As linhagens foram cultivadas em 5 mL de meio TSB líquido sob agitação constante (150 rpm) por 48 horas a 28 °C e o DNA das linhagens foi extraído utilizando o kit DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen®) seguindo as recomendações do fabricante. O rRNA 16S parcial foi amplificado por PCR utilizando-se os primers R1387 (5'-CGGTGTGTACAAGGCCCGGAACG-3') e PO27F (5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') (Heuer et al., 1997).

Os produtos de PCR do gene 16S foram purificados utilizando o kit GFXTM PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare). O sequenciamento foi realizado com os primers descritos na Tabela 1 no

equipamento Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems), no Laboratório de Melhoramento de Plantas (CENA-USP).

A identificação das linhagens a nível de gênero foi realizada pela análise das sequências consenso obtidas por meio do software Python® através de BLAST (NCBI). Para a montagem do dendrograma foram obtidas sequências de espécies dos gêneros de cada linhagem através do Ribossomal Database Project (RDP) (Maidak et al., 1996). Os dendrogramas foram gerados por meio do software Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing Platforms (MEGA X) (Kumar et al., 2018). As espécies utilizadas encontram-se no apêndice junto ao número de acesso que leva aos dados da sequência no RDP, Genbank e NCBI (National Center for Biotechnology Information).

### **2.2.7 Ensaio em casa de vegetação com os melhores tratamentos**

Os melhores resultados obtidos em ensaio de casa de vegetação anterior foram novamente testados em vasos plásticos com capacidade de 2,6 litros, utilizando substrato comercial, três sementes de milho da variedade DKB390 PRO Dekalb em cada vaso seguido de inoculação de 500 µl de suspensão bacteriana em tampão PBS por semente. Uma semana após a semeadura realizou-se a contagem de sementes germinadas, desbaste das plantas mantendo apenas uma planta por vaso e nova inoculação de 500 µl de suspensão bacteriana em tampão PBS. O experimento foi realizado em blocos casualizados, com total de 14 tratamentos e 14 blocos (um tratamento por bloco) contando com um consórcio anteriormente descrito como promotor de crescimento de plantas (Yassue et al., 2021).

A coleta do material foi realizada duas semanas após a semeadura com plantas em estádio V2 e V3. Os parâmetros avaliados foram altura de parte aérea, comprimento de raízes, massa seca de parte aérea e massa seca de raízes. Cinco blocos foram selecionados aleatoriamente para digitalização das raízes em scanner Epson® Expression 11000XL e avaliadas quanto a área, largura, comprimento, área projetada, área de superfície, diâmetro médio e volume de raízes utilizando o software WinRHIZOTM (Regent Instruments Inc.). Em R Studio, realizou-se o teste estatístico para cada uma das variáveis.

## **2.3 Resultados**

### **2.3.1 Isolamento, identificação e caracterização das linhagens bacterianas**

Por meio do isolamento bacteriano de amostras de solo de milho, foram obtidos 45 isolados, identificados pela sigla “CNM” - comunidade nativa do milho e números de 1 a 45. Das 45, apenas 33 linhagens foram utilizadas após a identificação taxonômica, selecionando aquelas que não apresentaram potencial de serem patogênicas e que puderam ser identificadas pelo menos em nível de gênero (Tabela 2).

Dentre as linhagens avaliadas, 22 linhagens apresentaram resultado positivo para fixação biológica de nitrogênio, 23 linhagens apresentaram produção de AIA, 7 linhagens foram capazes de solubilizar fosfato, 30 linhagens apresentaram resultado positivo para produção de ACC desaminase, 20 foram capazes de produzir exopolissacarídeos, todas apresentaram algum nível de produção de biofilme e nas condições testadas nenhuma linhagem foi capaz de produzir sideróforos. Além disso, 4 linhagens apresentaram inibição no crescimento do patógeno da cultura do milho *Dickeya zeae*. Entre as linhagens solubilizadoras de fósforo, não há diferença estatística significativa entre os índices de solubilização de fosfato (ISF). Há diferença estatística significativa entre as linhagens capazes de produzir AIA, e encontram-se classificadas segundo teste de Tukey (Tabela 3). Dez linhagens



foram identificadas como do gênero *Streptomyces*, 12 do gênero *Bacillus*, 5 do gênero *Priestia*, 3 do gênero *Siphonobacter*, uma do gênero *Arthrobacter*, uma do gênero *Amycolatopsis* e uma do gênero *Paenibacillus* (Tabela 2).

**Tabela 2.** Identificação das linhagens através de BLAST

Linhagem	Espécie	Identidade (%)	Cobertura (%)	Acesso
CNM01	<i>Streptomyces gelaticus</i>	99,68	99	EU741111.1
CNM02	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	99,56	99	NR_043843.1
CNM03	<i>Siphonobacter intestinalis</i>	98,08	99	NR_165683.1
CNM05	<i>Arthrobacter globiformis</i>	99,85	99	OK605815.1
CNM06	<i>Bacillus subtilis</i>	99,78	99	KY626046.1
CNM07	<i>Bacillus megaterium</i>	99,77	99	OQ553824.1
CNM08	<i>Priestia megaterium</i>	99,77	100	MT525296.1
CNM09	<i>Priestia megaterium</i>	100	100	MT515196.1
CNM10	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	98,93	99	EU812168.1
CNM11	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	99,15	98	KF730775.1
CNM12	<i>Bacillus</i> sp.	99,43 e 99,17	100	MG214497.1 e OR084098.1
CNM13	<i>Priestia aryabhatai</i>	99,70	96	OR064246.1
CNM14	<i>Priestia aryabhatai</i>	99,61	100	OP778638.1
CNM15	<i>Streptomyces</i> sp.	99,75 e 99,73	100	KX156139.1 e MT386266.1
CNM16	<i>Streptomyces lannensis</i>	99,69	100	MK026800.1
CNM17	<i>Streptomyces lannensis</i>	97,79	100	MN826182.1
CNM18	<i>Siphonobacter intestinalis</i>	99,36	100	ON973219.1
CNM19	<i>Siphonobacter intestinalis</i>	98,45	98	NR_165683.1
CNM22	<i>Bacillus altitudinis</i>	99,92	100	CP126456.1
CNM25	<i>Priestia megaterium</i>	99,86	99	CP045272.1
CNM26	<i>Bacillus altitudinis</i>	99,85	100	CP126456.1
CNM27	<i>Streptomyces griseorubiginosus</i>	99,61	100	MN826180.1
CNM28	<i>Bacillus arbutinivorans</i>	98,87	99	CN818242.1
CNM29	<i>Amycolatopsis kentuckyensis</i>	99,59	100	MK192019.1
CNM30	<i>Paenibacillus lautus</i>	99,85	100	MT510152.1
CNM34	<i>Priestia megaterium</i>	100	99	CP045272.1
CNM35	<i>Priestia megaterium</i>	100	100	MT515196.1
CNM37	<i>Streptomyces nigrescens</i>	99,62	98	LC027721.1
CNM38	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99,78	99	KJ676099.1
CNM39	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99,78	99	KJ676099.1
CNM41	<i>Streptomyces gelaticus</i>	99,77	98	EU741111.1
CNM42	<i>Bacillus stratosphericus</i>	94,69	100	OR084098.1
CNM45	<i>Bacillus pseudomycooides</i>	99,92	99	OQ686723.1

**Tabela 3.** Linhagens bacterianas isoladas da comunidade nativa de milho (CNM) caracterizados in vitro para características relacionadas à promoção de crescimento de milho.

Linhagem	Identificação taxonômica	FBN	ISF	AIA ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	ACC	EPS	Biofilme	<i>Dickeya</i>
CNM01	<i>Streptomyces</i> sp.	+	-	-	+	+	0.048	-
CNM02	<i>Streptomyces</i> sp.	+	-	8.03 c	+	-	0.013	-
CNM03	<i>Siphonobacter</i> sp.	-	-	4.57 c	+	-	0.045	-
CNM05	<i>Arthrobacter</i> sp.	+	-	5.27 c	+	+	0.099	-
CNM06	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	0.14 c	+	+	0.101	+
CNM07	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	6.78 c	+	+	0.045	+
CNM08	<i>Priestia</i> sp.	+	1.55 a	-	+	+	0.065	-
CNM09	<i>Priestia</i> sp.	+	-	18.70 ab	+	+	0.038	-
CNM10	<i>Streptomyces</i> sp.	-	-	6.03 c	+	-	0.061	-
CNM11	<i>Streptomyces</i> sp.	-	-	3.41 c	-	-	0.028	-
CNM12	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	-	+	+	0.119	+
CNM13	<i>Bacillus</i> sp.	+	1.56 a	-	+	+	0.047	-
CNM14	<i>Priestia</i> sp.	+	1.43 a	0.94 c	+	+	0.063	-
CNM15	<i>Streptomyces</i> sp.	+	-	4.32 c	+	-	0.097	-
CNM16	<i>Streptomyces</i> sp.	-	-	5.75 c	+	-	0.054	-
CNM17	<i>Streptomyces</i> sp.	+	-	0.12 c	+	-	0.052	-
CNM18	<i>Siphonobacter</i> sp.	-	-	7.06 c	+	-	0.060	-
CNM19	<i>Siphonobacter</i> sp.	-	-	9.95 ab	+	-	0.045	-
CNM22	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	-	+	+	0.075	-
CNM25	<i>Priestia</i> sp.	+	-	29.74 a	+	+	0.048	-
CNM26	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	-	+	+	0.119	-
CNM27	<i>Streptomyces</i> sp.	+	-	1.96 c	+	-	0.051	-
CNM28	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	-	+	-	0.124	-
CNM29	<i>Amycolatopsis</i> sp.	-	-	1.58 c	-	-	0.161	-
CNM30	<i>Paenibacillus</i> sp.	+	-	4.24 c	+	+	0.146	-
CNM34	<i>Bacillus</i> sp.	+	1.53 a	23.00 ab	+	+	0.048	-
CNM35	<i>Priestia</i> sp.	+	1.28 a	9.19 ab	+	+	0.048	-
CNM37	<i>Streptomyces</i> sp.	-	-	5.42 c	-	-	0.046	-
CNM38	<i>Bacillus</i> sp.	-	1.46 a	-	+	+	0.063	-
CNM39	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	5.35 c	+	+	0.067	-
CNM41	<i>Streptomyces</i> sp.	+	-	-	+	+	0.091	-
CNM42	<i>Bacillus</i> sp.	+	1.22 a	-	+	+	0.320	+
CNM45	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	4.89 c	+	+	0.072	-

FBN: Fixação Biológica de Nitrogênio; ISF: Índice de Solubilização de Fosfato, pode ser classificada em: baixo ( $\text{ISF} < 2$ ), médio ( $2 < \text{ISF} < 3$ ) e alto ( $\text{ISF} > 3$ ) (Batista, 2012); AIA: Ácido Indol-Acético; ACC: produção de ACC desaminase; EPS: produção de exopolissacarídeos; Biofilme: produção relativa de biofilme de acordo com a leitura em espectrofotômetro a 540 nm – quanto maior o valor, maior a produção de biofilme; *Dickeya*: linhagens que apresentaram capacidade de inibir o crescimento do patógeno *Dickeya zeae* apresentam sinal +.

### 2.3.2 Ensaios de antibiose, formação dos consórcios bacterianos e resultados preliminares de promoção de crescimento de plantas

Os consórcios foram selecionados priorizando a complementariedade das funções fisiológicas das linhagens a serem utilizadas (Tabela 3). O primeiro consórcio foi construído levando em consideração a diversidade de gêneros bacterianos, sendo composto por *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05, *Siphonobacter* sp. CNM19, *Priestia*

sp. CNM25 e *Bacillus* sp. CNM34. O segundo consórcio foi construído apenas com linhagens do gênero *Bacillus*, sendo elas *Bacillus* sp. CNM07, *Bacillus* sp. CNM13, *Bacillus* sp. CNM34, *Bacillus* sp. CNM39 e *Bacillus* sp. CNM42. O terceiro consórcio foi construído com linhagens do gênero *Priestia* (*Priestia* sp. CNM08; *Priestia* sp. CNM09; *Priestia* sp. CNM014; *Priestia* sp. CNM25; *Priestia* sp. CNM35).

**Tabela 4.** Características fisiológicas das linhagens presentes nos consórcios

Linhagem	Identificação taxonômica	FBN	ISF	AIA (µg.mL <sup>-1</sup> )	ACC	EPS	Biofilme	<i>Dickeya</i>
Consórcio 1								
CNM02	<i>Streptomyces</i> sp.	+	-	8.03	+	-	0.013	-
CNM05	<i>Arthrobacter</i> sp.	+	-	5.27	+	++	0.099	-
CNM19	<i>Siphonobacter</i> sp.	-	-	9.95	+	-	0.045	-
CNM25	<i>Priestia</i> sp.	+	-	29.74	+	+	0.048	-
CNM34	<i>Bacillus</i> sp.	+	1.53	23.00	+	+	0.048	-
Consórcio 2								
CNM07	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	6.78	+	+	0.045	+
CNM13	<i>Bacillus</i> sp.	+	1.56	-	+	+	0.047	-
CNM34	<i>Bacillus</i> sp.	+	1.53	23.00	+	+	0.048	-
CNM39	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	5.35	+	+	0.067	-
CNM42	<i>Bacillus</i> sp.	+	1.22	-	+	++	0.320	+
Consórcio 3								
CNM08	<i>Priestia</i> sp.	+	1.55	-	+	+	0.065	-
CNM09	<i>Priestia</i> sp.	+	-	18.70	+	+	0.038	-
CNM14	<i>Priestia</i> sp.	+	1.43	0.94	+	+	0.063	-
CNM25	<i>Priestia</i> sp.	+	-	29.74	+	+	0.048	-
CNM35	<i>Priestia</i> sp.	+	1.28	9.19	+	++	0.048	-

FBN: Fixação Biológica de Nitrogênio; ISF: Índice de Solubilização de Fosfato, pode ser classificada em: baixo (ISF<2), médio (2<ISF<3) e alto (ISF>3) (Batista, 2012); AIA: Ácido Indol-Acético; ACC: produção de ACC desaminase; EPS: produção de exopolissacarídeos, pode ser classificado em: baixo (+), médio (++) e alto (+++); Biofilme: produção relativa de biofilme de acordo com a leitura em espectrofotômetro a 540 nm – quanto maior o valor, maior a produção de biofilme; *Dickeya*: linhagens que apresentaram capacidade de inibir o crescimento do patógeno *Dickeya zeae* apresentam sinal +.

Para garantir a compatibilidade de crescimento entre linhagens, realizou-se ensaio de antibiose entre as linhagens selecionadas. Verificou-se que *Bacillus* sp. CNM07 inibe o crescimento das linhagens *Bacillus* sp. CNM13 e *Bacillus* sp. CNM34, sendo excluídas do consórcio (Figura 1b). No consórcio de *Priestia*, *Priestia* sp. CNM08 e *Priestia* sp. CNM09 inibem-se e inibem *Priestia* sp. CNM25 (Figura 1c). Logo, as linhagens inibidoras foram removidas do consórcio.

a		Linhagens - Consórcio 1				
	Streptomyces sp. CNM02	Arthrobacter sp. CNM05	Siphonobacter sp. CNM19	Priestia sp. CNM25	Bacillus sp. CNM34	
Streptomyces sp. CNM02	-	-	-	-	-	
Arthrobacter sp. CNM05	-	-	-	-	-	
Siphonobacter sp. CNM19	-	-	-	-	-	
Priestia sp. CNM25	-	-	-	-	-	
Bacillus sp. CNM34	-	-	-	-	-	

b		Linhagens - Consórcio 2				
	Bacillus sp. CNM07	Bacillus sp. CNM13	Bacillus sp. CNM34	Bacillus sp. CNM39	Bacillus sp. CNM42	
Bacillus sp. CNM07	-	+	+	-	-	
Bacillus sp. CNM13	+	-	-	-	-	
Bacillus sp. CNM34	+	-	-	-	-	
Bacillus sp. CNM39	-	-	-	-	-	
Bacillus sp. CNM42	-	-	-	-	-	

c		Linhagens - Consórcio 3				
	Priestia sp. CNM08	Priestia sp. CNM09	Priestia sp. CNM14	Priestia sp. CNM25	Priestia sp. CNM35	
Priestia sp. CNM08	-	+	-	+	-	
Priestia sp. CNM09	+	-	-	+	-	
Priestia sp. CNM14	-	-	-	-	-	
Priestia sp. CNM25	-	-	-	-	-	
Priestia sp. CNM35	-	-	-	-	-	

**Figura 1.** Ensaio de antibiose. a. Diagrama do resultado do teste de antibiose para o consórcio 1. b. Diagrama do resultado do teste de antibiose para o consórcio 2. c. Diagrama do resultado do teste de antibiose para o consórcio 3.

Como consórcios finais obtivemos:

1. Consórcio diverso taxonomicamente: *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05, *Siphonobacter* sp. CNM19, *Priestia* sp. CNM25 e *Bacillus* sp. CNM34.
2. Consórcio *Bacillus*: *Bacillus* sp. CNM13, *Bacillus* sp. CNM34, *Bacillus* sp. CNM39, *Bacillus* sp. CNM42.
3. Consórcio *Priestia*: *Priestia* sp. CNM14, *Priestia* sp. CNM25, *Priestia* sp. CNM35.

Todos os consórcios possuem pelo menos uma linhagem capaz de fixar nitrogênio, solubilizar fósforo, produzir AIA, produzir ACC desaminase e exopolissacarídeos. O consórcio *Bacillus* também apresenta uma linhagem capaz de inibir o crescimento do patógeno *D. zea*.

Para o experimento em casa de vegetação realizou-se todas as combinações possíveis entre os consórcios, sendo que as linhagens CNM02 e CNM05 foram utilizadas em consórcios separadamente. Na Tabela 4 os tratamentos estão detalhados, sendo que os números indicam qual linhagem CNM está presente no consórcio. As linhagens foram crescidas separadamente, normalizadas à OD600nm = 0,1 (aproximadamente 10<sup>8</sup> células por ml) e misturadas proporcionalmente, em seguida foram aplicadas nas plantas.

**Tabela 4.** Lista de tratamentos contendo isolados bacterianos do experimento piloto em casa de vegetação

Consórcio	Tratamentos
Diverso	CNM02; CNM19; CNM25; CNM34; CNM05; CNM02 + CNM19; CNM02 + CNM25; CNM02 + CNM34; CNM19 + CNM25; CNM19 + CNM34; CNM25 + CNM34; CNM05 + CNM19; CNM05 + CNM25; CNM05 + CNM34; CNM02 + CNM19 + CNM25; CNM02 + CNM19 + CNM34; CNM02 + CNM25 + CNM34; CNM19 + CNM25 + CNM34; CNM05 + CNM19 + CNM25; CNM05 + CNM19 + CNM34; CNM05 + CNM25 + CNM34; CNM02 + CNM19 + CNM25 + CNM34; CNM05 + CNM19 + CNM25 + CNM34
Bacillus	CNM13; CNM34; CNM39; CNM42; CNM13 + CNM34; CNM13 + CNM39; CNM13 + CNM42; CNM34 + CNM39; CNM34 + CNM42; CNM39 + CNM42; CNM13 + CNM34 + CNM39; CNM13 + CNM34 + CNM42; CNM13 + CNM39 + CNM42; CNM34 + CNM39 + CNM42; CNM13 + CNM34 + CNM39 + CNM42
Priestia	CNM14; CNM25; CNM35; CNM14 + CNM25; CNM14 + CNM35; CNM25 + CNM35; CNM14 + CNM25 + CNM35

Além dos tratamentos listados acima, um tratamento controle também foi utilizado. O tratamento controle continha meio de cultura TSB diluído em tampão PBS que foi utilizado para diluir os inóculos, visando manter o mais similar possível aos tratamentos que apresentaram isolados bacterianos.

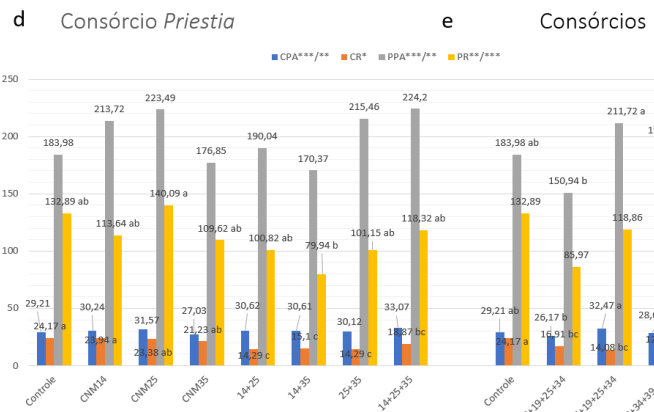
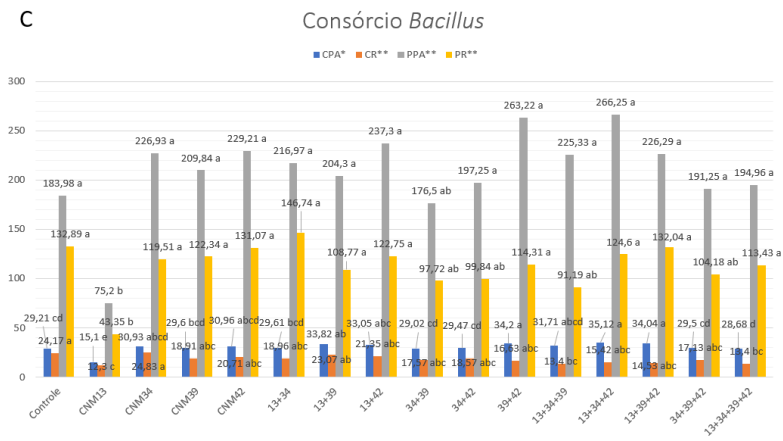
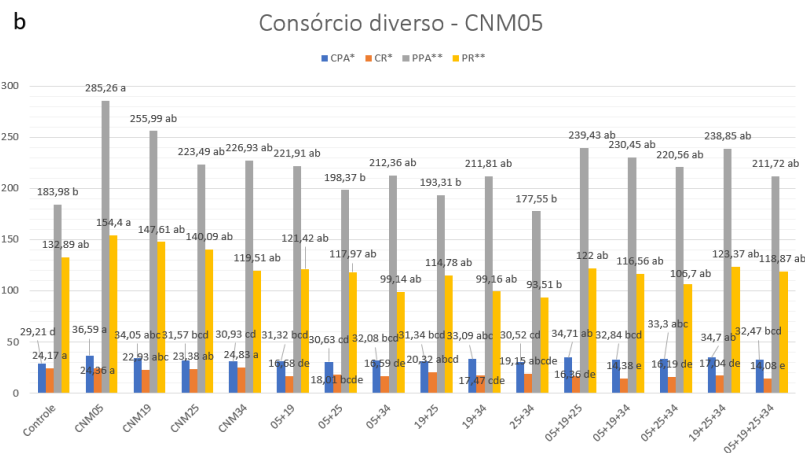
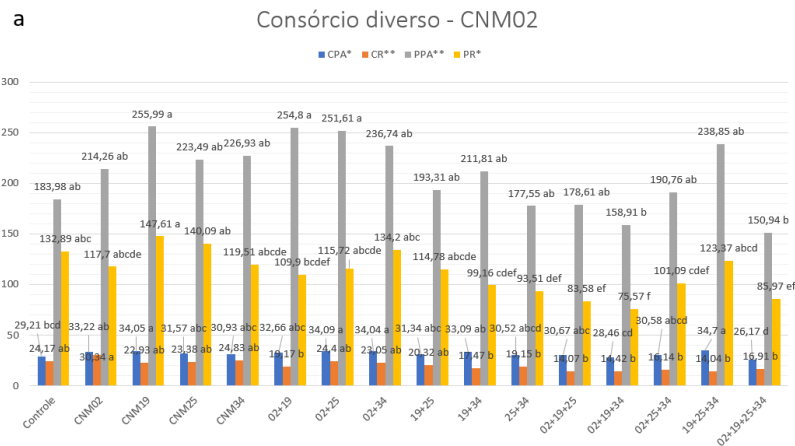
Quanto aos parâmetros relacionados a promoção de crescimento vegetal, foram avaliados o comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz (Tabela 5). Observa-se que para os atributos relacionados com raízes o tratamento controle encontra-se no grupo de médias com melhores resultados (a). O tratamento CNM13 (*Bacillus* sp. CNM13) está entre os piores tratamentos obtidos nas condições testadas, sendo o único tratamento no grupo c para as variáveis relacionadas à parte aérea. Dentre todos os tratamentos apenas CNM05 (*Arthrobacter* sp. CNM05) apresenta médias de todas as variáveis acima das médias do tratamento controle. Destaca-se também que o consórcio taxonomicamente diverso apresenta tratamentos com melhor desempenho se comparado aos tratamentos dos consórcios *Bacillus* e *Priestia*.

**Tabela 5.** Resultados da avaliação estatística para as variáveis obtidas no experimento

Consórcio diverso – CNM02				
Tratamento	CPA*	CR**	PPA**	PR*
Controle	29,21 bcd	24,17 ab	183,98 ab	132,89 abc
CNM02	33,22 ab	30,34 a	214,26 ab	117,70 abcde
CNM19	34,05 a	22,93 ab	255,99 a	147,61 a
CNM25	31,57 abc	23,38 ab	223,49 ab	140,09 ab
CNM34	30,93 abc	24,83 ab	226,93 ab	119,51 abcde
02+19	32,66 abc	19,17 b	254,80 a	109,90 bcdef
02+25	34,09 a	24,40 ab	251,61 a	115,72 abcde
02+34	34,04 a	23,05 ab	236,74 ab	134,20 abc
19+25	31,34 abc	20,32 ab	193,31 ab	114,78 abcde
19+34	33,09 ab	17,47 b	211,81 ab	99,16 cdef
25+34	30,52 abcd	19,15 b	177,55 ab	93,51 def
02+19+25	30,67 abc	14,07 b	178,61 ab	83,58 ef
02+19+34	28,46 cd	14,42 b	158,91 b	75,57 f
02+25+34	30,58 abcd	16,14 b	190,76 ab	101,09 cdef
19+25+34	34,70 a	14,04 b	238,85 ab	123,37 abcd
02+19+25+34	26,17 d	16,91 b	150,94 b	85,97 ef
Consórcio diverso – CNM05				
Tratamento	CPA*	CR*	PPA**	PR**
Controle	29,21 d	24,17 a	183,98 b	132,89 ab
CNM05	36,59 a	24,36 a	285,26 a	154,40 a
CNM19	34,06 abc	22,93 abc	255,99 ab	147,61 ab

CNM25	31,57 bcd	23,38 ab	223,49 ab	140,09 ab
CNM34	30,93 cd	24,83 a	226,93 ab	119,51 ab
05+19	31,32 bcd	16,68 de	221,91 ab	121,42 ab
05+25	30,63 cd	18,01 bcde	198,37 b	117,97 ab
05+34	32,08 bcd	16,59 de	212,36 ab	99,14 ab
19+25	31,34 bcd	20,32 abcd	193,31 b	114,78 ab
19+34	33,09 abc	17,47 cde	211,81 ab	99,16 ab
25+34	30,52 cd	19,15 abcde	177,55 b	93,51 b
05+19+25	34,71 ab	16,36 de	239,43 ab	122,00 ab
05+19+34	32,84 bcd	14,38 e	230,54 ab	116,56 ab
05+25+34	33,30 abc	16,19 de	220,56 ab	106,70 ab
19+25+34	34,70 ab	17,04 de	238,85 ab	123,37 ab
05+19+25+34	32,47 bcd	14,08 e	211,72 ab	118,87 ab
<i>Consórcio Bacillus</i>				
Tratamento	CPA*	CR**	PPA**	PR**
Controle	29,21 cd	24,17 a	183,98 a	132,89 a
CNM13	15,1 e	12,30 c	75,20 b	43,35 b
CNM34	30,93 abcd	24,83 a	226,93 a	119,51 a
CNM39	29,60 bcd	18,91 abc	209,84 a	122,34 a
CNM42	30,96 abcd	20,71 abc	229,21 a	131,07 a
13+34	29,61 bcd	18,96 abc	216,97 a	146,74 a
13+39	33,82 ab	23,07 ab	204,30 a	108,77 a
13+42	33,05 abc	21,35 abc	237,30 a	122,75 a
34+39	29,02 cd	17,57 abc	176,50 ab	97,72 ab
34+42	29,47 cd	18,57 abc	197,25 a	99,84 ab
39+42	34,20 a	16,63 abc	263,22 a	114,31 a
13+34+39	31,71 abcd	13,40 bc	225,33 a	91,19 ab
13+34+42	35,12 a	15,42 abc	266,25 a	124,60 a
13+39+42	34,04 a	14,53 abc	226,29 a	132,04 a
34+39+42	29,50 cd	17,13 abc	191,25 a	104,18 ab
13+34+39+42	28,68 d	13,40 bc	194,96 a	113,43 a
<i>Consórcio Priestia</i>				
Tratamento	CPA***	CR*	PPA***	PR**
Controle	29,21	24,17 a	183,98	132,89 ab
CNM14	30,24	23,94 a	213,72	113,64 ab
CNM25	31,57	23,38 ab	223,49	140,09 a
CNM35	27,03	21,23 ab	176,85	109,62 ab
14+25	30,62	14,29 c	190,04	100,82 ab
14+35	30,61	15,10 c	170,37	79,94 b
25+35	30,12	14,29 c	215,46	101,15 ab
14+25+35	33,07	18,87 bc	224,20	118,32 ab
<i>Comparação entre consórcios</i>				
Tratamento	CPA**	CR*	PPA**	PR***
Controle	29,21 ab	24,17 a	183,98 ab	132,89
02+19+25+34	26,17 b	16,91 bc	150,94 b	85,97
05+19+25+34	32,47 a	14,08 bc	211,72 a	118,86
13+34+39+42	28,68 ab	12,79 c	194,96 ab	113,43
14+25+35	33,07 a	18,87 ab	224,20 a	118,32

CPA = comprimento de parte aérea; CR = comprimento de raiz; PPA = massa seca de parte aérea; PR = massa seca de raiz; Controle = Tratamento inoculado sem bactéria; \* Teste LSD; \*\* Teste Tukey; \*\*\* Não há diferença estatística significativa.





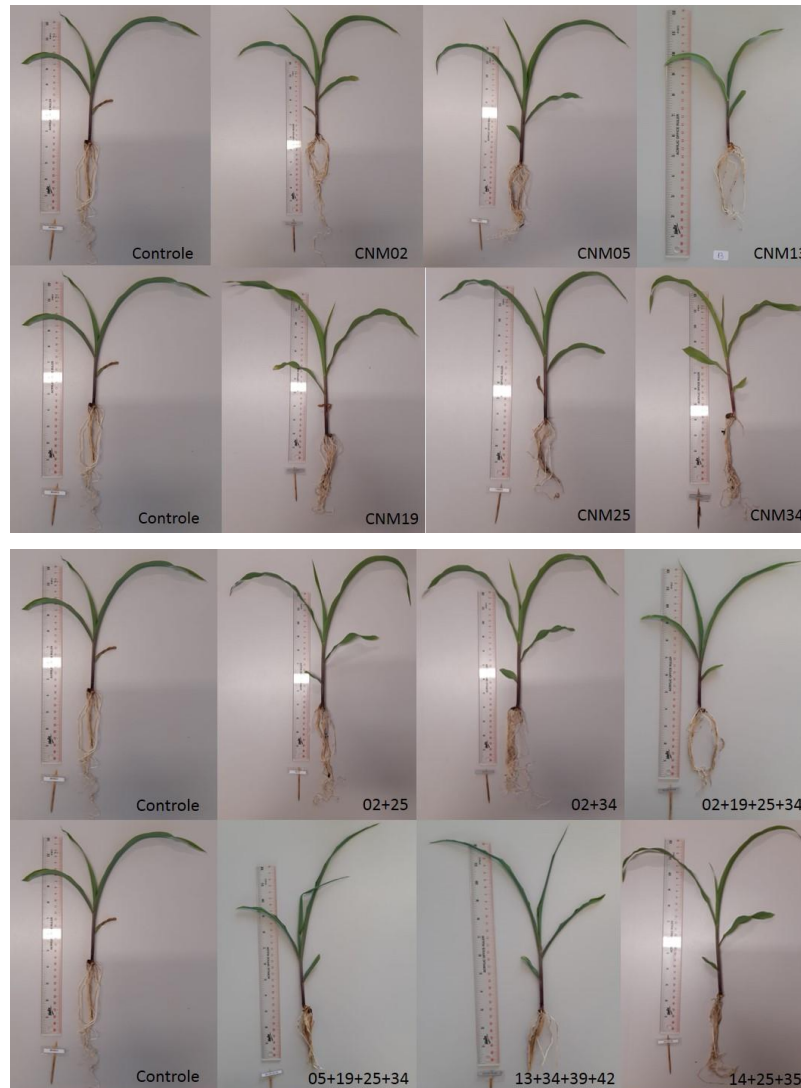
**Figura 2.** a. Gráfico dos resultados em casa de vegetação para o consórcio diverso de CNM02. b. Gráfico dos resultados em casa de vegetação para o consórcio diverso de CNM05. c. Gráfico dos resultados em casa de vegetação para o consórcio *Bacillus*. d. Gráfico dos resultados em casa de vegetação para o consórcio *Priestia*. e. Gráfico dos resultados em casa de vegetação da comparação entre consórcios. CPA = comprimento de parte aérea; CR = comprimento de raiz; PPA = massa seca de parte aérea; PR = massa seca de raiz; Controle = Tratamento inoculado sem bactéria; \* Teste LSD; \*\* Teste Tukey; \*\*\* Não há diferença estatística significativa.

Os tratamentos que apresentaram três ou quatro variáveis com valores acima do controle foram CNM02, CNM05, CNM19, CNM02 + CNM25 e CNM02 + CNM34. Na Tabela 6 pode-se observar a comparação das médias dos tratamentos destacados em relação ao tratamento controle. Também se observa visualmente o desempenho dos tratamentos na Figura 2, onde os consórcios completos apresentam plantas de menor comprimento de parte aérea e comprimento de raiz. De modo contrário, as linhagens *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05 e *Siphonobacter* sp. CNM19 apresentam maiores comprimentos de parte aérea e comprimento de raiz.

**Tabela 6.** Comparação percentual de incremento ou redução nas variáveis avaliadas com relação ao tratamento controle (sem bactéria)

Tratamento	Comprimento PA	Comprimento raiz	Massa seca PA	Massa seca raiz
CNM02	13,73%	25,53%	16,46%	-11,43%
CNM05	25,26%	0,79%	55,05%	16,19%
CNM19	16,60%	-5,13%	39,14%	11,08%
CNM02 + CNM25	16,70%	0,95%	36,76%	-12,92%
CNM02 + CNM34	16,53%	-4,63%	28,68%	1,0%

Comprimento PA = comprimento da parte aérea; Massa seca PA = massa seca da parte aérea



**Figura 3.** Plantas de cada tratamento obtidas no experimento em casa de vegetação.

Para melhor comparação dos resultados obtidos, observamos nas tabelas 7, 8, 9 e 10 os valores percentuais positivos e negativos relacionados às médias de cada variável observada.

No consórcio taxonomicamente diverso com *Streptomyces* sp. CNM02 (Tabela 7), observamos que comparando o tratamento contendo a linhagem CNM02 individual e os consórcios, há melhor desempenho geral dos consórcios CNM02 + CNM19, CNM02 + CNM19 + CNM25 e CNM02 + CNM19 + CNM34. Os consórcios piores em relação à linhagem individual foram CNM02 + CNM25, CNM02 + CNM34 e CNM02 + CNM25 + CNM34. O consórcio contendo as quatro linhagens (02+19+25+34) comparado à CNM02 apresentou maiores valores nas variáveis comprimento de parte aérea e massa seca de raízes, enquanto as outras variáveis apresentam maiores valores no tratamento com CNM02. Observamos que os tratamentos contendo a linhagem CNM19 em conjunto com outras linhagens, nesse caso, apresentaram melhores resultados que os consórcios sem CNM19. A próxima comparação, entre a linhagem CNM19 individual e os consórcios mostra que o uso da linhagem CNM19 em consórcio é melhor, já que nos consórcios CNM02 + CNM19, CNM19 + CNM25, CNM19 + CNM34, CNM02 + CNM19 + CNM25, CNM02 + CNM19 + CNM34 e CNM02 + CNM19 + CNM25 + CNM34 a maior parte das variáveis apresentou valores maiores que os observados na linhagem CNM19 aplicada individual. Só se observa melhor resultado na linhagem CNM19 individual comparando ao consórcio CNM19 + CNM25 + CNM34.

Comparando a linhagem CNM25 com os consórcios, observamos que os consórcios CNM19 + CNM25, CNM25 + CNM34, CNM02 + CNM19 + CNM25 e CNM02 + CNM25 + CNM34 apresentam melhor desempenho que a linhagem CNM25 individual. O consórcio CNM19 + CNM25 + CNM34 apresenta resultado pior, e os consórcios CNM02 + CNM25 e CNM02 + CNM19 + CNM25 + CNM34 apresentam resultado mediano, com valores de raiz e parte aérea respectivamente, melhores que a linhagem individual. Comparando a linhagem CNM34 com os consórcios, observamos que os consórcios CNM19 + CNM34, CNM25 + CNM34, CNM02 + CNM19 + CNM34 e CNM02 + CNM25 + CNM34 apresentam valores maiores que a linhagem individual, no geral. Os consórcios CNM02 + CNM34 e CNM19 + CNM25 + CNM34 são piores que a linhagem individual e o consórcio CNM02 + CNM19 + CNM25 + CNM34 apresentou melhores resultados nas variáveis de parte aérea. Entre esses tratamentos, observamos que na maior parte os consórcios apresentaram melhores resultados que as linhagens aplicadas individualmente. O consórcio completo (CNM02 + CNM19 + CNM25 + CNM34) apresentou-se na maioria das vezes intermediário, destacando-se nas variáveis relacionadas à parte aérea.

**Tabela 7.** Comparação percentual dos resultados obtidos entre linhagens aplicadas individualmente e em consórcio com linhagens diversas incluindo *Streptomyces* sp. CNM02

	Controle				CNM02+CNM19				CNM02+CNM25				CNM02+CNM34			
	C		PS		C		PS		C		PS		C		PS	
	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM02	13.7	25.5	16.4	-11.4	-4.1	-16.4	-0.5	-25.5	8.0	4.4	12.6	-17.4	10	-7.2	4.3	12.3
CNM19	16.6	-5.1	39.1	11.1	-1.7	-36.8	18.9	-6.6	-	-	-	-	-	-	-	-
CNM25	8.1	-3.3	21.5	5.4	-	-	-	-	2.6	-19.6	17.4	-1.7	-	-	-	-
CNM34	5.9	2.7	23.3	-10.1	-	-	-	-	-	-	-	-	2.5	-24.0	10.5	14.0
	CNM19+CNM25				CNM19+CNM34				CNM25+CNM34				CNM02+CNM19+CNM25			
	C		PS		C		PS		C		PS		C		PS	
	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-2.1	-30.7	-7.6	-27.2
CNM19	-0.7	-13.1	-13.5	-18.1	7.0	-29.6	-6.7	-17.0	-	-	-	-	-10.0	-42.3	-29.0	-27.8
CNM25	-8.0	-11.4	-24.5	-22.2	-	-	-	-	-1.3	-22.9	-21.8	-21.7	-6.1	-26.5	-29.9	-23.9
CNM34	-	-	-	-	-2.8	-23.8	-17.3	-32.8	-3.3	-18.1	-20.6	-33.2	-	-	-	-
	CNM02+CNM19+CNM34				CNM02+CNM25+CNM34				CNM19+CNM25+CNM34				CNM02+CNM19+CNM25+CNM34			
	C		PS		C		PS		C		PS		C		PS	
	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM02	-14.0	-14.4	-25.0	-23.8	0.2	-15.7	7.4	8.1	-	-	-	-	-24.6	15.1	36.8	-30.3
CNM19	-10.2	-30.0	-19.4	-24.7	-	-	-	-	13.7	-11.0	34.5	31.9	-14.4	21.5	-20.9	-14.9
CNM25	-	-	-	-	10.2	-30.0	-19.4	-24.7	4.9	-2.5	12.8	24.4	-8.0	36.0	-5.0	13.8
CNM34	-12.9	-24.8	-37.6	-31.2	-10.3	-33.8	-24.2	-12.6	10.7	-16.1	23.6	7.5	-14.7	39.3	-15.5	2.9

C PA = comprimento de parte aérea; C R = comprimento de raiz; PS PA = massa seca de parte aérea; PS R = massa seca de raiz. Todos os valores são em porcentagem. Controle: planta sem inóculo bacteriano.

No consórcio com linhagens diversas incluindo *Arthrobacter* sp. CNM05 (Tabela 8) deve-se destacar o bom desempenho da linhagem CNM05 individual. Comparando com os consórcios, o desempenho da linhagem individual ainda é melhor que CNM05 + CNM19 + CNM25 e CNM05 + CNM25 + CNM34. Já os consórcios CNM05 + CNM19, CNM05 + CNM25, CNM05 + CNM34 e CNM05 + CNM19 + CNM25 + CNM34 são melhores que a linhagem individual. Apresentou-se intermediário o consórcio CNM05 + CNM19 + CNM34, com os comprimentos melhores. Das comparações ainda não realizadas compostas com CNM19, o consórcio CNM05 + CNM19 é melhor que CNM19 individual, já os consórcios CNM05 + CNM19 + CNM25 e CNM05 + CNM19 + CNM34 apresentaram resultados piores que a linhagem individual. Como resultado médio há o consórcio CNM05 + CNM19 + CNM25 + CNM34, destacando-se nas variáveis de parte aérea. Comparando com CNM25, o consórcio CNM05 + CNM25 apresentou melhores resultados, enquanto que CNM05 + CNM19 + CNM25 e CNM05 +

CNM25 + CNM34 piores resultados. Novamente CNM05 + CNM19 + CNM25 + CNM34 apresenta-se intermediário, destacando-se nas variáveis de parte aérea. Comparando CNM34 com os consórcios, observamos que os consórcios CNM05 + CNM34 e CNM05 + CNM19 + CNM25 + CNM34 são melhores que a linhagem individual e que CNM05 + CNM25 + CNM34 apresenta resultados piores. Como intermediário, o consórcio CNM05 + CNM19 + CNM34 apresenta destaque nos valores relacionados às variáveis de raiz. Aqui observa-se que CNM05 tem maior destaque nos consórcios com duas linhagens.

**Tabela 8.** Comparação percentual dos resultados obtidos entre linhagens aplicadas individualmente e em consórcio com linhagens diversas incluindo *Arthrobacter* sp. CNM05

	Controle				CNM05+CNM19				CNM05+CNM25				CNM05+CNM34			
	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM0																
5	25.3	0.8	55.0	16.2	-8.0	27.3	-13.3	17.7	-3.0	23.0	-11.2	15.8	3.7	-33.2	-6.4	-17.0
CNM1																
9	16.6	-5.1	39.1	11.1	14.4	31.5	-22.2	21.4	-	-	-	-	-	-	-	-
CNM2																
5	8.1	-3.3	21.5	5.4	-	-	-	-	16.3	26.1	-30.5	23.6	-	-	-	-
CNM3																
4	5.9	2.7	23.3	-10.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-12.3	-31.9	-25.6	-35.8
	CNM19+CNM25				CNM19+CNM34				CNM25+CNM34				CNM05+CNM19+CNM25			
	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM0																
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.7	-19.5	23.9	6.3
CNM1																
9	-0.7	13.1	-13.5	-18.1	7.0	29.6	-6.7	17.0	-	-	-	-	13.3	-9.2	20.7	3.4
CNM2																
5	-8.0	11.4	-24.5	-22.2	-	-	-	-	-1.3	22.9	-21.8	21.7	10.8	-1.9	7.9	0.5
CNM3																
4	-	-	-	-	-2.8	23.8	-17.3	32.8	-3.3	18.1	-20.6	33.2	-	-	-	-
	CNM05+CNM19+CNM34				CNM05+CNM25+CNM34				CNM19+CNM25+CNM34				CNM05+CNM19+CNM25+CNM34			
	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM0																
5	-0.8	17.7	8.8	17.5	9.1	15.5	24.2	14.1	-	-	-	-	-6.4	0.2	-11.4	-3.6
CNM1																
9	2.4	13.3	8.6	17.6	-	-	-	-	13.7	11.0	34.5	31.9	-2.5	5.5	-4.0	11.4
CNM2																
5	-	-	-	-	3.8	-2.4	3.9	7.6	4.9	-2.5	12.8	24.4	-1.1	18.8	-8.2	2.0
CNM3																
4	4.8	13.8	3.9	-4.0	8.7	10.1	11.2	9.5	10.7	16.1	23.6	7.5	-6.4	4.4	-11.6	-2.6

C PA = comprimento de parte aérea; C R = comprimento de raiz; PS PA = massa seca de parte aérea; PS R = massa seca de raiz. Todos os valores são em porcentagem. Controle: planta sem inóculo bacteriano.

No consórcio *Bacillus* (Tabela 9) observamos que apesar do desempenho inferior da linhagem CNM13, os consórcios CNM13 + CNM42 e CNM13 + CNM34 + CNM42 apresentaram desempenho geral pior que a linhagem individual. Os consórcios CNM13 + CNM34 e CNM13 + CNM39 + CNM42 foram melhores e o restante intermediário, sendo CNM13 + CNM39 melhor nas variáveis massa seca de raiz e massa seca de parte aérea, CNM13 + CNM34 + CNM39 melhores nas variáveis de raiz (massa seca e comprimento) e CNM13 + CNM34 + CNM39 + CNM42 melhora nas variáveis de comprimento de raiz e comprimento de parte aérea. Comparando a

linhagem CNM34 individual e nos consórcios, observamos que os consórcios CNM34 + CNM39, CNM34 + CNM42, CNM13 + CNM34 + CNM39, CNM34 + CNM39 + CNM42 e CNM13 + CNM34 + CNM39 + CNM42 são melhores que a linhagem individual, sendo piores apenas CNM13 + CNM34 e CNM13 + CNM34 + CNM42. Realizando as comparações com a linhagem CNM39, os consórcios CNM34 + CNM39, CNM39 + CNM42, CNM13 + CNM34 + CNM39, CNM13 + CNM34 + CNM39 + CNM42 são melhores, já o consórcio CNM13 + CNM39 apresenta piores valores. Intermediário apresentam-se CNM13 + CNM39 + CNM42 e CNM34 + CNM39 + CNM42 destacando-se nas variáveis comprimento de raiz e massa seca de parte aérea para ambos os consórcios. Com a linhagem CNM42 podemos observar melhores resultados nos consórcios CNM34 + CNM42 e CNM13 + CNM34 + CNM39 + CNM42. Já os consórcios CNM13 + CNM42, CNM13 + CNM34 + CNM42, CNM13 + CNM39 + CNM42 e CNM34 + CNM39 + CNM42 apresentaram piores valores comparados à linhagem CNM42 individual. Com valores intermediários, há o consórcio CNM39 + CNM42 destacando-se nas variáveis relacionadas às raízes. Nesse caso, pode-se observar que na maior parte dos casos a presença da linhagem *Bacillus* sp. CNM13 em consórcios duplos apresentou valores inferiores às linhagens individuais. Nos outros casos, há maior variabilidade de resultados.

**Tabela 9.** Comparação percentual dos resultados obtidos entre linhagens aplicadas sozinhas e em consórcio para o consórcio “*Bacillus*”

	Controle				CNM13+ CNM34				CNM13+ CNM39				CNM13+ CNM42			
	C		PS		C		PS		C		PS		C		PS	
	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM13	-48.3	-49.1	-59.1	-67.4	-4.3	-23.6	-4.4	22.8	14.2	22.0	-2.6	-11.1	6.7	3.1	3.5	-6.3
CNM34	5.9	2.7	23.3	-10.1	96.1	54.1	188.5	238.5	-	-	-	-	-	-	-	-
CNM39	1.4	-21.8	14.1	-7.9	-	-	-	-	124.0	87.6	171.7	151.0	-	-	-	-
CNM42	6.0	-14.3	24.6	-1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	118.9	73.6	215.6	183.2
	CNM34+ CNM39				CNM34+ CNM42				CNM39+ CNM42				CNM13+CNM34+CNM39			
	C		PS		C		PS		C		PS		C		PS	
	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.3	-23.7	27.7	-6.7
CNM34	-2.0	-7.1	-15.9	-20.1	-4.8	-10.3	-13.9	-23.8	-	-	-	-	-6.2	-42.0	10.3	-16.2
CNM39	-6.2	-29.2	-22.2	-18.2	-	-	-	-	10.5	-19.7	14.8	-12.8	7.1	-29.3	3.8	-37.9
CNM42	-	-	-	-	-4.7	-25.2	-13.1	-16.5	15.5	-12.1	25.4	-6.6	-	-	-	-
	CNM13+CNM34+CNM42				CNM13+CNM39+CNM42				CNM34+CNM39+CNM42				CNM13+CNM34+CNM39+CNM42			
	C		PS		C		PS		C		PS		C		PS	
	PA	C R	PA	PS R	PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PA	PS R	C PA	C R	PS PA	PS R
CNM13	19.2	-17.0	35.0	24.8	-0.5	-12.6	-14.0	15.5	-	-	-	-	-2.8	-25.3	1.9	8.9
CNM34	6.2	-27.8	12.2	1.5	-	-	-	-	-13.7	3.0	-27.3	-8.9	-15.7	-12.0	-13.8	-14.1
CNM39	-	-	-	-	3.0	-32.0	-4.6	7.6	0.1	-7.7	-3.0	4.3	-18.3	-17.1	-26.8	-9.0
CNM42	6.3	-27.8	12.2	1.5	0.6	-37.0	10.8	21.4	1.6	-2.5	8.4	6.6	-9.5	-4.5	-13.5	24.4

C PA = comprimento de parte aérea; C R = comprimento de raiz; PS PA = massa seca de parte aérea; PS R = massa seca de raiz. Todos os valores são em porcentagem. Controle: planta sem inóculo bacteriano.

No consórcio *Priestia* (Tabela 10), o consórcio completo (CNM14 + CNM25 + CNM35) é inferior a todos os tratamentos constituídos de apenas uma linhagem. São melhores que CNM14 individual os consórcios CNM14 + CNM25 e CNM14 + CNM35. Comparado ao tratamento CNM25, o consórcio CNM14 + CNM25 é melhor, mas CNM25 + CNM35 é intermediário com destaque para as variáveis de raiz. O tratamento com CNM35 é inferior aos consórcios CNM14 + CNM35 e CNM25 + CNM35.

**Tabela 10.** Comparação percentual dos resultados obtidos entre linhagens aplicadas individualmente e em consórcio para o consórcio “*Priestia*”

	Controle				CNM14+CNM25				CNM14+CNM35				CNM25+CNM35				CNM14+CNM25+CNM35			
	C PA	PS C R	PS PA	PS R	C PA	PS C R	PS PA	PS R	C PA	PS C R	PS PA	PS R	C PA	PS C R	PS PA	PS R	C PA	PS C R	PS PA	PS R
CNM14	3.5	-0.9	16.2	14.5	3.0	38.9	15.0	28.0	13.2	28.9	-3.7	27.1	-	-	-	-	9.8	14.6	4.1	17.0
CNM25	8.1	-3.3	21.5	5.4	1.3	40.3	11.1	11.3	-	-	-	-	11.4	22.4	21.8	-7.7	8.0	25.0	31.6	48.0
CNM35	7.5	12.2	-3.9	17.5	-	-	-	-	1.2	36.9	20.3	29.6	-4.6	29.5	-3.6	27.8	8.0	32.0	18.0	17.4

C PA = comprimento de parte aérea; C R = comprimento de raiz; PS PA = massa seca de parte aérea; PS R = massa seca de raiz. Todos os valores são em porcentagem. Controle: planta sem inóculo bacteriano.

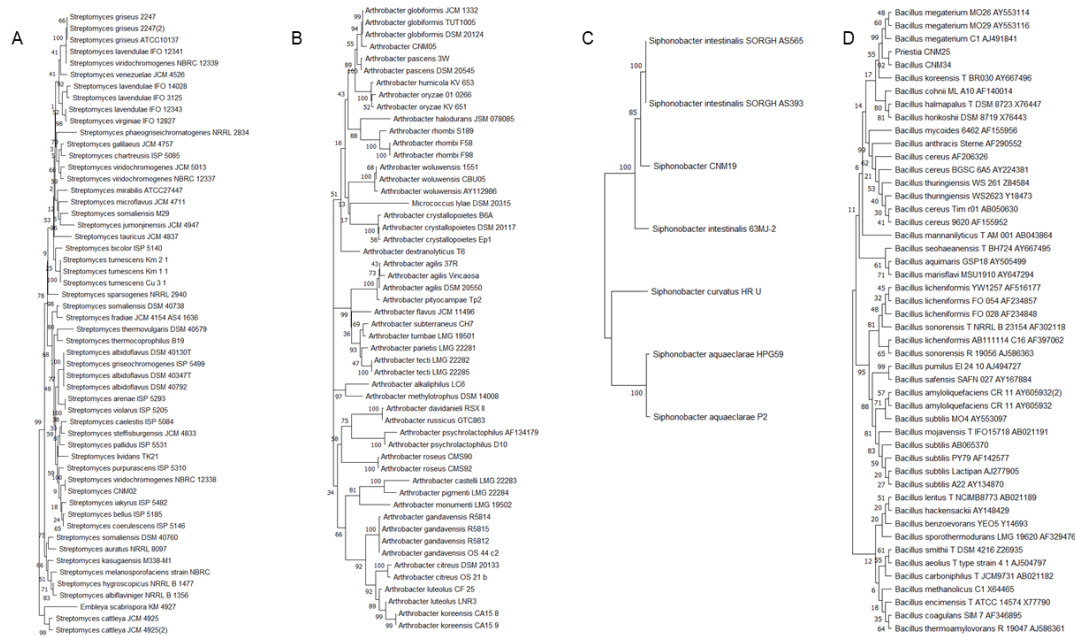
### 2.3.3 Sequenciamento completo e dendograma das linhagens selecionadas

Foram selecionadas como linhagens mais interessantes para estudo *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05, *Siphonobacter* sp. CNM19, *Priestia* sp. CNM25 e *Bacillus* sp. CNM34. A linhagem *Streptomyces* sp. CNM02 apresenta efeito relativamente melhor, principalmente quando co-inoculada com *Priestia* sp. CNM25 ou *Bacillus* sp. CNM34. Além disso, é interessante o consórcio CNM02 + CNM19 + CNM25 + CNM34. *Arthrobacter* sp. CNM05 possui efeito isolado destacado de todos os tratamentos avaliados, assim como ocorre com *Siphonobacter* sp. CNM19. A linhagem CNM19 também é interessante em consórcio com outras linhagens. *Bacillus* sp. CNM34 mostrou-se interessante em co-inoculação com *Streptomyces* sp. CNM02 além de outras co-inoculações em tratamentos com várias linhagens. Através do sequenciamento completo do gene 16S rRNA e construção de dendograma (Figura 3) para cada uma das linhagens obteve-se a identificação a nível de espécie (Tabela 11).

**Tabela 11.** Identificação a nível de espécie das linhagens bacterianas com o gene 16S rRNA completo

Linhagem	Espécie identificada
CNM02	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>
CNM05	<i>Arthrobacter globiformis</i>
CNM19	<i>Siphonobacter intestinalis</i>
CNM25	<i>Bacillus megaterium</i> ( <i>Priestia megaterium</i> )
CNM34	<i>Bacillus megaterium</i> ( <i>Priestia megaterium</i> )

A espécie *Bacillus megaterium* passou a ser chamada recentemente de *Priestia megaterium* (Gupta et al., 2020) sendo que ao final as linhagens CNM25 e CNM34 podem ser classificadas como espécie *Priestia megaterium*.



**Figura 4.** Dendrograma das linhagens selecionadas para o consórcio. A: dendrograma da linhagem *Streptomyces viridochromogenes* CNM02; B: dendrograma da linhagem *Arthrobacter globiformis* CNM05; C: dendrograma da linhagem *Siphonobacter intestinalis* CNM19; D: dendrograma das linhagens *Priestia megaterium* CNM25 e *Priestia megaterium* CNM34.

### 2.3.4 Promoção de crescimento de plantas por linhagens bacterianas isoladas de solo cultivado com milho

Em novo experimento, compararam-se dois consórcios. Um dos consórcios formado por *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05, *Siphonobacter* sp. CNM19 e *Priestia* sp. CNM25. O outro consórcio, formado por *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05, *Siphonobacter* sp. CNM19 e *Priestia* sp. CNM34. Escolheu-se esses isolados devido ao melhor desempenho no primeiro experimento em casa de vegetação e afim de comparar a diferença de eficiência na promoção de crescimento entre as duas linhagens do gênero *Priestia* utilizados. Também utilizou-se como controle positivo um consórcio já testado anteriormente (Yassue et al., 2021).

Foram avaliadas as variáveis altura de planta, comprimento de raiz, germinação, massa seca de parte aérea, massa seca de raiz, e as variáveis obtidas através do WinRhizo: área de raiz, largura de raiz, altura de raiz, comprimento de raiz, área projetada, área de superfície, diâmetro, volume de raiz, pontas, garfos e cruzamentos de raízes.

Comparando os consórcios, apenas massa seca de parte aérea apresentou diferença estatística significativa, sendo que entre dentre todos os consórcios, o controle positivo apresentou-se melhor resultado no aumento de massa seca de parte aérea. Entre os dois consórcios em que compara-se as linhagens de *Priestia*, destaca-se o desempenho da linhagem *Priestia* sp. CNM25. Há diferença estatística significativa entre o consórcio *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05, *Siphonobacter* sp. CNM19 e *Priestia* sp. CNM34 e o restante, sendo que o consórcio com *Priestia* sp. CNM34 apresentou a pior média em massa seca de parte aérea (Tabela 12). O restante das variáveis não apresentou diferença estatística significativa.

**Tabela 12.** Comparação das médias de massa seca de parte aérea entre consórcios.

Tratamento	Altura de parte aérea (cm)	Comprimento de raiz (cm)	Massa seca de parte aérea (mg)	Massa seca de raiz (mg)
Controle	23,76 a	59,17 a	28,26 ab	74,06 a
Consórcio positivo	22,33 a	53,26 a	32,15 a	78,60 a
CNM02+CNM05+CNM19+CNM25	22,27 a	54,18 a	26,15 ab	75,50 a
CNM02+CNM05+CNM19+CNM34	23,27 a	51,64 a	19,42 b	58,79 a

Controle: planta sem inóculo bacteriano; Consórcio positivo: *Azospirillum brasilense* Ab-V5 + *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9 + *Delftia* sp. RZ4MS18 + *Pantoea agglomerans* 33.1.

Também realizou-se comparações entre as linhagens inoculadas individualmente e os consórcios. No consórcio com a linhagem *Priestia* sp. CNM25, há diferença estatística significativa nas variáveis massa seca de parte aérea, massa seca de raiz e comprimento de raiz (WinRhizo). O tratamento CNM05 apresenta melhor desempenho em todas as variáveis comparados aos outros tratamentos. O consórcio encontra-se em posição intermediária em todas as variáveis, junto aos tratamentos controle, CNM19 e CNM02 para as variáveis massa seca de parte aérea e massa seca de raiz e junto as variáveis CNM02 e CNM25 na variável comprimento de raiz (WR). O tratamento CNM25 apresentou-se com pior desempenho nas variáveis massa seca de parte aérea e massa seca de raiz. Na variável comprimento de raiz (WR) observamos que o pior tratamento é o controle (Tabela 13).

Para o consórcio com *Priestia* sp. CNM34, observa-se diferença estatística significativa entre as médias dos tratamentos nas variáveis massa seca de parte aérea, massa seca de raiz, altura obtida em WinRhizo, garfos e cruzamentos de raízes. Novamente observa-se o melhor desempenho da linhagem CNM05 em todas as variáveis que possuem diferença estatística significativa. Massa seca de raiz e altura (WR) apresentam CNM19 com valores estatisticamente iguais a CNM05. Na variável massa seca de parte aérea, CNM19, controle, CNM02 e CNM34 apresentam valores intermediários e o consórcio é o pior tratamento. Com relação ao massa seca de raiz, controle, CNM02 e CNM34 são intermediários e consórcio novamente como pior valor. Controle e CNM02 são intermediários em altura (WR) enquanto que CNM34 e consórcio apresentam valores estatisticamente iguais entre si, sendo os piores tratamentos. A variável forquilha apresenta novamente CNM34 e consórcio valores estatisticamente iguais entre si como piores tratamentos. Em cruzamentos, o pior valor é do tratamento CNM34 (Tabela 14).

**Tabela 13.** Comparação das médias de variáveis com diferença estatística significativa entre os tratamentos do consórcio CNM02 + CNM05 + CNM19 + CNM25.

Tratamento	Massa seca de parte aérea	Massa seca de raiz	Comprimento de raiz (WR)
Controle	42,76 ab	37,80 ab	10,0 b
Consórcio	39,46 ab	38,19 ab	13,6 ab
CNM02	35,11 ab	41,23 ab	11,8 ab
CNM05	48,15 a	47,96 a	21,0 a
CNM19	41,96 ab	44,22 ab	21,4 a
CNM25	29,53 b	27,69 b	15,2 ab

WR = WinRhizo. Controle: planta sem inóculo bacteriano.



**Tabela 14.** Comparação das médias de variáveis com diferença estatística significativa entre os tratamentos do consórcio CNM02 + CNM05 + CNM19 + CNM34.

Tratamento	Massa seca de parte aérea	Massa seca de raiz	Altura WR	Forquilhas	Cruzamentos
Controle	43,42 ab	38,15 ab	14,5 ab	12,2 bc	12,0 bc
Consórcio	29,23 b	25,38 b	8,2 b	10,8 c	12,6 bc
CNM02	35,88 ab	41,19 ab	16,8 ab	15,0 abc	14,6 abc
CNM05	49,19 a	47,34 a	21,2 a	23,2 a	22,8 a
CNM19	43,46 ab	43,19 a	22,1 a	21,8 ab	22,0 ab
CNM34	35,80 ab	41,73 ab	10,2 b	10,0 c	9,0 c

WR = WinRhizo. Controle: planta sem inóculo bacteriano.

## 2.4 Discussão

O desenvolvimento de bioinoculantes envolve pesquisas com isolamento e seleção de bactérias eficientes para diversas culturas, como no caso de diversas linhagens de *A. brasilense*, comercializadas para milho, arroz, trigo e *Brachiaria* spp (Bonfim et al., 2020).

No presente trabalho, inicialmente foram obtidas 45 linhagens bacterianas das quais 33 apresentaram pelo menos uma característica de promoção de crescimento avaliada. Observou-se que entre as 33 linhagens, 67% puderam realizar fixação biológica de nitrogênio, 70% produziram AIA, 21% solubilizaram fosfato, 91% produziram ACC desaminase, 61% produziram exopolissacarídeos, todas apresentaram algum nível de produção de biofilme e nenhuma linhagem foi capaz de produzir sideróforos. Com relação à inibição de crescimento do patógeno *Dickeya zeeae*, apenas 12% apresentaram essa característica. Com relação à identificação taxonômica, 30% pertencem ao gênero *Streptomyces*, 36%, *Bacillus*, 15% *Priestia*, 9% *Siphonobacter* e 3% para cada um dos gêneros seguintes: *Arthrobacter*, *Amycolatopsis*, *Paenibacillus*. Os parâmetros avaliados *in vitro* foram utilizados para selecionar possíveis BPCPs, assim como o gênero foi considerado para selecionar os consórcios avaliados.

Outros trabalhos também buscam a seleção de BPCPs considerando suas habilidades *in vitro* para em seguida realizar testes in planta. Raj et al. (2023) isolaram 31 bactérias nativas de *Hypericum perforatum*, importante planta medicinal na Índia, das quais 26 apresentaram capacidade de produzir AIA e solubilizar fósforo, 21 produziram sideróforos e 15 apresentaram produção de ACC desaminase. Dessas, 8 foram selecionadas para prosseguir aos testes em casa de vegetação e apenas duas apresentaram melhor acúmulo de pigmento fotossintético e maior acúmulo de biomassa em *H. perforatum*. Do mesmo modo, Olanrewaju e Babalola (2019), apresentaram o isolamento de 31 linhagens bacterianas de rizosfera de milho seguido de avaliação da produção de AIA, produção de ACC desaminase, sideróforos, atividade bioquímica e de antagonismo contra patógenos. Foram selecionadas 6 linhagens identificadas como pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Streptomyces*, utilizadas em consórcios além de seu uso separadamente. Observou-se que a partir da 8ª semana, todas as características avaliadas apresentaram melhores valores nos tratamentos contendo consórcios, exceto número de folhas, que apresentou melhores resultados em um tratamento contendo apenas uma BPCP.

A resposta das plantas em relação a aplicação de BPCPs é influenciada pela densidade do inóculo, método de inoculação, características do solo (presença de antagonistas, umidade, pH, temperatura) e características do próprio hospedeiro (espécie, estágio fisiológico, entre outros) (Lopes et al., 2021). Durante o desenvolvimento do trabalho, utilizou-se os mesmos substratos comerciais, visando mitigar o efeito de diferentes substratos, porém, percebe-se a necessidade de se utilizar solos com diversas características físico-químicas, principalmente considerando a diversidade de solos encontrados no Brasil e os efeitos diversos que alteram a eficiência de aplicação de BPCPs (Lopes et al., 2021). Do mesmo modo, buscou-se avaliar a planta sempre nas mesmas condições.

A dose de aplicação de BPCPs também é importante. Comparando a aplicação de 100, 200 e 300 ml.ha<sup>-1</sup> de *A. brasilense*, observou-se que a melhor dose de aplicação é de 200 ml.ha<sup>-1</sup> em arroz irrigado (Garcia et al., 2016). Além da dose do microrganismo em si, é necessário um ajuste de doses de fertilizantes químicos visando obter os melhores resultados, com menores custos (Oliveira et al., 2018; Fukami et al., 2016).

Com relação ao método de aplicação, estudo envolvendo a co-inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* indicam que o tratamento de sementes (bacterização) é o método mais eficiente, visto seus resultados melhores ou similares à aplicação em sulco de semeadura além dos menores custos ao produtor (Braccini et al., 2016). Para mudas de melancia, a bacterização de sementes encontra-se entre um dos três métodos com melhor eficiência na promoção de crescimento (Carvalho, 2009). Isso porque a inoculação de microrganismos deve ocorrer o mais próximo o possível da rizosfera já que usualmente os microrganismos não são muito móveis no solo. As interações dos microrganismos nas raízes de plantas promovem principalmente, a modulação de níveis hormonais, acarretando na melhora da germinação de sementes (Lopes et al., 2021). O presente trabalho utiliza a aplicação em sulco como principal método de aplicação de bactérias, porém, a literatura tem apontado a bacterização de sementes como método de maior interesse, já que apresenta resultados melhores ou semelhantes à aplicação em sulco e possui aplicação prática mais viável.

Todos os gêneros bacterianos isolados no presente trabalho já foram anteriormente descritos como presentes na rizosfera de milho e apontados como potenciais promotores de crescimento de plantas a partir de testes fisiológicos realizados *in vitro* e *in planta* (García-Cárdenas et al., 2023; Deng et al., 2022; Massucato et al., 2022; Santos et al., 2022; Kafi et al., 2021; Olanrewaju et al., 2021; Rattanapolsan et al., 2021; Ali et al., 2020; Chukwuneme et al., 2020; Wahyudi et al., 2019; Tchakounté et al., 2018).

Diversos estudos apontam um *screening* fisiológico *in vitro* como sendo uma metodologia eficiente para a seleção de BPCPs (Emami et al., 2019; Batista et al., 2018; Youseif, 2018; Toribio-Jiménez et al., 2017; Ahmad et al., 2008). O fitormônio ácido-indol-acético (AIA), relacionado com a coordenação de diversos processos de desenvolvimento da planta, bem como alongação de raiz primária, estímulo de raízes laterais e adventícias além de arquitetura de raízes, é fator chave na escolha de BPCPs, e já foi descrita a eficiência de bactérias que possuem essa característica em plantas de amendoim, trigo, pepino, milho, arroz, feijão, uva e outras plantas de valor econômico menos expressivo (Etesami e Maheshwari, 2018; Youseif, 2018). Por meio de acidificação, BPCPs solubilizadoras de fosfato tornam fosfato insolúvel em formas disponíveis para uso pelas plantas, sendo descrito na literatura em milho, amendoim, beterraba, arroz, trigo e uva (Etesami e Maheshwari, 2018). Os sideróforos atuam na quelação de ferro, tornando-o disponível para plantas e indisponível para possíveis patógenos, atuando em dois nichos (fertilização e biocontrole), sendo observado o sucesso de bactérias produtoras de sideróforos em amendoim, milho, beterraba, pepino, pimenta, grão-de-bico, arroz, feijão, canola, tomate, uva e outras plantas de baixo valor econômico (Etesami e Maheshwari, 2018). A produção da enzima ACC desaminase atua mitigando estresse causado por etileno e consequentemente, melhora o desenvolvimento do sistema radicular. Também atua no alívio de toxicidade por metais pesados, e o sucesso de BPCPs com tal característica pode ser observado em tomate, uva, amendoim, camelina, beterraba, pepino, pimenta, grão-de-bico, arroz, trigo e outras (Etesami e Maheshwari, 2018). Muito conhecido e amplamente utilizado em soja, bactérias fixadoras de nitrogênio são importantes para aumento da aquisição de N<sub>2</sub> pelas plantas, como no caso de milho, amendoim e beterraba (Etesami e Maheshwari, 2018; Hungria et al., 2010). Por meio do biofilme, bactérias podem sobreviver, competir, colonizar e se adaptar às condições de estresse, sendo também descrito que bactérias com tal característica pode promover crescimento de grão-de-bico, trigo, tomate, entre outras culturas (Ajijah et al., 2023; Etesami e Maheshwari, 2018). Exopolissacarídeos estão

relacionadas com melhora na estrutura de solo, agregação microbiana e formação de biofilme, e podem ser encontrados em diversas BPCPs, como observado em plantas de arroz (Etesami e Maheshwari, 2018; Naseem e Bano, 2014). Além da observação dos efeitos individualmente, é importante conhecer seu efeito benéfico crescente com a inoculação diversas espécies contendo diversas características relacionadas à promoção de crescimento de plantas (Singh et al., 2015).

Linhagens bacterianas podem atuar de modo sinérgico como um ecossistema fazendo parte de um consórcio microbiano (Singh et al., 2015). Consórcios bacterianos são constituídos de duas ou mais linhagens bacterianas compatíveis que apresentam efeito sinérgico ou aditivo (Santoyo et al., 2021; Sarma et al., 2015). No presente capítulo, são apresentados três consórcios bacterianos, sendo dois compostos por apenas um gênero bacteriano e outros dois por quatro gêneros diferentes. Assim como observado na literatura, os consórcios mais diversos taxonomicamente apresentaram melhor desempenho que aqueles compostos por apenas um gênero bacteriano. Apesar disso, contrariando alguns estudos, linhagens aplicadas individualmente apresentam melhor desempenho que os consórcios.

A alta diversidade microbiana inoculante pode aumentar o desempenho da promoção de crescimento se comparado com a inoculação de linhagens únicas (Wang et al., 2022; Vanini et al., 2021; Mogal et al., 2020; Olanrewaju, Babalola, 2019; Kong et al., 2018; Korir et al., 2017; Santiago et al., 2017; Armada et al., 2016; Couillerot et al., 2013; Hungria e Megías, 2013; Jha, Saraf, 2012). Apesar do que é descrito na literatura, algumas linhagens quando individual apresentaram melhor desempenho do que em consórcio, como no caso de *Arthrobacter globiformis* CNM05 e *Siphonobacter intestinalis* CNM19 que em geral apresentaram resultados melhores em comparação às outras linhagens e aos consórcios avaliados. O gênero *Arthrobacter* já foi apontado como promotor de crescimento de plantas em diversas culturas (milho, arroz, trigo, ervilha, e outras) além de possuir potencial como bactéria para biorremediação em áreas contaminadas com químicos (Chhetri et al., 2022; Kumar et al., 2020; Roy e Kumar, 2020; Vanissa et al., 2020; Safdarian et al., 2019; Xu et al., 2018; Aviles-Garcia et al., 2016; Manzanera et al., 2015). Quanto ao gênero *Siphonobacter*, não foi encontrado na bibliografia trabalhos relacionados ao seu uso como bactéria promotora de crescimento de plantas.

Apesar do potencial de promoção de crescimento das outras linhagens ter se apresentado inferior no presente estudo, é conhecido que os mecanismos pelos quais microrganismos influenciam o crescimento de plantas difere entre espécies e linhagens e que o momento de atuação de certa linhagem pode ser outro no ciclo da cultura (Souza et al., 2015). Dessa forma, as linhagens que foram menos eficientes neste experimento podem apresentar melhor desempenho em outras culturas, solos e estágio de desenvolvimento da cultura já que a eficiência de inoculantes pode variar de acordo com tais características (Hassani et al., 2018). Porém, para aplicação na agricultura, é importante que os resultados sejam consistentes em experimentos que devem ser repetidos em casa de vegetação e em campo como observado para as linhagens *A. globiformis* CNM5 e *S. intestinalis* CNM19 em todos os experimentos realizados até o momento em casa de vegetação.

## Referências

- Agler, M. T., Ruhe, J., Kroll, S., Morhenn, C., Kim, S. T., Weigel, D., Kemen, E. M. Microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation. Plos Biology 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002352>
- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M. S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research. 2008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001>

- Ajjah, N., Fiodor, A., Pandey, A. K., Rana, A., Pranaw, K. Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) with Biofilm-Forming Ability: A Multifaceted Agent for Sustainable Agriculture. *Diversity*. 2023. doi: <https://doi.org/10.3390/d15010112>
- Ali, S., Saldias, S., Weerasuriya, N., Delaney, K., Kandasamy, S., Lazarovits, G. Corn microbial diversity and its relationship to yield. *Canadian Journal of Microbiology*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0002>
- Amaya-Gómez, C. V., Porcel, M., Mesa-Garriga, L. Gómez-Álvarez, M. I. A framework for the selection of plant growth-promoting rhizobacteria based on bacterial competence mechanisms. *Appl Environ Microbiol*. 2020. DOI: 10.1128/AEM.00760-20
- Armada, E., Probanza, A., Roldán, A., Azcón, R. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. *Journal of Plant Physiology*. Mar, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.007>
- Aviles-Garcia, M. E., Flores-Cortez, I., Hernández-Soberano, C., Santoyo G., Valencia-Cantero, E. La rizobacteria promotora del crecimiento vegetal *Arthrobacter agilis* UMCV2 coloniza endofíticamente a *Medicago truncatula*. *Revista Argentina de Microbiología*. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2016.07.004>
- Backer, R.; Rokem, J. S.; Ilangurmaran, G.; Lamont, J.; Praslickova, D.; Ricci, E.; Subramanian S.; Smith, D. L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Front. Plant Sci*. 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Bonfim, C. S. G., Silva, V. B., Cursino, L. H. S., Mattos, W. S., Santos, J. C. S., Souza, L. S. B., Dantas, B. F., Freitas, A. D. S., Fernandes-Júnior, P. I. Endophytic bacteria naturally inhabiting commercial maize seeds occupy different niches and are efficient plant growth-promoting agents. *Symbiosis*. 2020. <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00701-z>
- Braccini, A. L., Mariucci, G. E. G., Suzukawa, A. K., Lima, L. H. S., Piccinin, G. G. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. *Sci. Agrar. Parana*. 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n1p27-35>
- Bric, J.M., Bostock, R.M. and Silverstone, S.E. (1991) Rapid In Situ Assay for Indole Acetic Acid Production by Bacteria Immobilized on Nitrocellulose Membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 535-538.
- Carvalho, F. C. Q. Métodos de bacterização e promoção de crescimento em melancia com utilização de bactérias epifíticas. *Rev. Bras. De Agroecologia*. 2009.
- Chukwuneme, C. F., Babalola, O. O., Kutu, F. R., Ojuederie, O. B. Biochemical and Molecular Characterization, and Bioprospecting of Drought Tolerant Actinomycetes from Maize Rhizosphere Soil. *bioRxiv*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.13.094003>
- Chhetri, G., Kim, I., Kang, M., So, Y., Kim, J., Seo, T. Na isolated *Arthrobacter* sp. enhances rice (*Oriza sativa* L.) plant growth. *Microorganisms* 2022. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061187>
- Couillerot, O., Ramírez-Trujillo, A., Walker, V., Von Felten, A., Jansa, J., Maurhofer, M., Défago, G., Prigent-Combaret, C., Comte, G., Caballero-Mellado, J., Moëgne-Locco, Y. Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum*–*Pseudomonas*–*Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4249-z>
- Deng, C., Liang, X., Zhang, N., Li, B., Wang, X., Zeng, N. Molecular mechanisms of plant growth promotion for methylophilic *Bacillus aryabhatai* LAD. *Front. Microbiol*. 2022. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.917382>

- Doan, T. T., Nguyen, T. H., Zeller, H., Ullrich, C. Status of research on biological control of tomato and groundnut bacterial wilt in Vietnam. In: Proceedings of the 1st International Symposium Biological Control of Bacterial Plant Diseases, Seeheim/Darmstadt, Germany, 23–26 October 2005; Zeller, W., Ullrich, C., Eds.; Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry: Berlin, Germany, 2006
- Döbereiner, J., Baldani, V. L. D., Baldani, J. I. (1995) Como Isolar e Identificar Bactérias Diazotróficas De Plantas não-leguminosas Brasília, Embrapa-SP: Itaguaí Embrapa-CNPAB, p. 60.
- Egamberdiyeva, D. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology*. 2007. doi:10.1016/j.apsoil.2007.02.005
- Emami, S., Alikhani, H. A., Pourbabaei, A. A. et al. Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. *Environ Sci Pollut Res*, 2019. doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05284-x>
- Etesami, H., Maheshwari, D. K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>
- Fukami, J., Nogueira, M. A., Araujo, R. S., Hungria, M. Assessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. *AMB Expr*. 2016. Doi: 10.1186/s13568-015-0171-y
- Garcia, N. F. S., Arf, O., Portugal, J. R., Peres, A. R., Rodrigues, M., Penteado, M. Doses and application methods of *Azospirillum brasilense* in irrigated upland rice. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient*. 2016. Doi: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n11p990-995>
- García-Cárdenas, E., Ortiz-Castro, R., Ruiz-Herrera, L. F., Valencia-Cantero, E., López-Bucio, J. *Bacillus* sp. LC390B from the Maize Rhizosphere Improves Plant Biomass, Root Elongation, and Branching and Requires the Phytochromes PHYA and PHYB for Phytostimulation. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2023. doi: <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10770-7>
- Glick, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 1995
- Guimarães, D. P., Costa, F. A. A., Rodrigues, M. I., Mauger, F. Optimization of dextran synthesis and acidic hydrolysis by surface response analysis. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 16, n. 2, p.129-139, 1999. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-66321999000200004>
- Gupta, R. S., Patel, S., Saini, N., Chen, S. Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel Bacillaceae genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the *Subtilis* and *Cereus* clades of species. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020. Doi: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004475>
- Hassani, M. A., Durán, P., Hacquard, S. Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome*. 2018. doi: 10.1186/s40168-018-0445-0.
- Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K., Wellington, E.W., 1997. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gelelectrophoretic separation in denaturing gradients. *Appl. Environ. Microbiol* 63, 3233–3241. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1000669317571>.
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., Pedrosa, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant soil*, 2010. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>

- Hungria, M., Megías, M. Uma década de ouro se aproxima para a microbiologia do solo: expectativas da pesquisa, da indústria, dos agricultores e da sociedade. In: Iberoamerican Conference on Beneficial Plant – Microorganism – Environment Interactions. Anais CNPSO, 210-517. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/971192>
- Husen, E. (2013) Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities in vitro Indones. J. Agric. Sci., 4, pp. 27-31. doi: 10.21082/ijas.v4n1.2003.p27-31.
- Jha, C. K., Saraf, M. Evaluation of Multispecies Plant-Growth-Promoting Consortia for the Growth Promotion of *Jatropha curcas* L.. J Plant Growth Regul. 2012 <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9269-5>
- Kafi, S. A., Karim, E., Motlagh, M. A., Amini, Z., Mohammadi, A., Sadeghi, A. Isolation and identification of *Amycolatopsis* sp. strain 1119 with potential to improve cucumber fruit yield and induce plant defense responses in commercial greenhouse. Plant and Soil. 2021. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05097-3>
- Kong, Z., Hart, M., Liu, H. Paving the way from the lab to the field: using synthetic microbial consortia to produce high-quality crops. Front. Plant Sci., Oct. 2018. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01467>
- Korir, H., Mungai, N. W., Thuita, M., Hamba, Y., Masso, C. Co-inoculation effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. Front. Plant Sci. 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00141>
- Kumar, A., Singh, S., Gaurav, A. K., Srivastava, S., Verma, J. P. Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants. Front. Microbiol. 2020. doi: 10.3389/fmicb.2020.01216
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Mol. Biol. Evol., 2018. Doi: 10.1093/molbev/msy096.
- Kwasny, S. M., Opperman, T. J. Static biofilm cultures of gram-positive pathogens grown in a microtiter format used for anti-biofilm drug discovery. Curr Protoc Pharmacol. 2010; Chapter 13: Unit 13A.8
- Lopes, M. J. S., Dias-Filho, M. B., Gurgel, E. S. C. Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. Front. Sustain. Food Syst. 2021. Doi: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.606454>
- Maidak, B. L., Olsen, G. K., Larsen, N., Overbeek, R., McCaughey, M. J., Woese, C. R. The Ribosomal Database Project (RDP). Nucleic Acids Research, 1996. Doi: <https://doi.org/10.1093/nar/24.1.82>
- Manzanera, M., Narváez-Reinaldo, J. J., García-Fontana, C., Vílchez, J., I., González-López, J. Genome sequence of *Arthrobacter koreensis* 5J12A, a plant growth-promoting and desiccation-tolerant strain. Genome Announc. 2015. doi:10.1128/genomeA.00648-15.
- Massucato, L. R., Almeida, S. R. A., Silva, M. B., Mosela, M., Zeffa, D. M., Nogueira, A. F., de Lima Filho, R. B., Mian, S., Higashi, A. Y., Teixeira, G. M., Shimizu, G. D., Giacomini, R. M., Fendrich, R. C., Faria, M. V., Scapim, C. A., Gonçalves, L. S. A. Efficiency of Combining Strains Ag87 (*Bacillus megaterium*) and Ag94 (*Lysinibacillus* sp.) as Phosphate Solubilizers and Growth Promoters in Maize. Microorganisms 2022, 10, 1401. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071401>
- Mogal, S. C., Jha, S., Suthar, H., Parekh, V., Rajkumar, B. K. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) consortia for modulation of phytohormone and better nutrient acquisition. Pla. Sci., 2020. DOI: <https://doi.org/10.32439/ps.v3i4.20-29>
- Naseem, H., Bano, A. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. Journal of Plant Interactions. 2014. doi: <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.902125>
- Olanrewaju, O. S., Babalola, O. O. Bacterial Consortium for Improved Maize (*Zea mays* L.) Production. Microorganisms 2019. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110519>

- Olanrewaju, O. S., Ayilara, M. S., Ayangbenro, A. S., Oluranti, O. Genome Mining of Three Plant Growth-Promoting *Bacillus* Species from Maize Rhizosphere. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2021. doi: <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03660-3>
- Oliveira, I. J., Fontes, J. R. A., Pereira, B. F. F., Muniz, A. W. Inoculation with *Azospirillum brasilense* increases maize yield. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 2018. Doi: <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0118-z>
- Paulo, E. M., Vasconcelos, M. P., Oliveira, I. S., Affe, H. M. J., Nascimento, R., Melo, I. S., Roque, M. R. A., Assis, S. A. An alternative method for screening lactic acid bacteria for the production of exopolysaccharides with rapid confirmation. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, 32 (4): 710-714, 2012.
- Quecine, M. C., Araújo, W. L., Rosetto, P. B., Ferreira, A., Tsui, S., Lacava, P. T., Mondim, M., Azevedo, J. L. Pizzirani-Kleiner, A. A Sugarcane growth promotion by 26 endophytic bacterium *Pantoea agglomerans* 33.1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012. doi: 10.1128/AEM.00836-12
- Raj, Y., Kumar, A., Kumari, S., Kumar, R., Kumar, R. Comparative Genomics and Physiological Investigations Supported Multifaceted Plant Growth-Promoting Activities in Two *Hypericum perforatum* L.-Associated Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Microbe-Assisted Cultivation. *Environmental Microbiology*. 2023. doi: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00607-23>
- Rattanapolsan, L., Nakbanpote, W., Sangdee, A. Zinc- and cadmium-tolerant endophytic bacteria from *Murdannia spectabilis* (Kurz) Faden. studied for plant growth-promoting properties, in vitro inoculation, and antagonism. *Archives of Microbiology*. 2021. doi: <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02108-2>
- Roy, P., Kumar, A. Chapter 1 - *Arthrobacter*. In: Amaresan, N., Kumar, M. S., Annapurna, K., Kumar, K., Sankaranarayanan, A. *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*. 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00001-0>
- Safdarian, M., Askari, H., Shariati J., V., Nematzadeh, G. Transcriptional responses of wheat roots inoculated with *Arthrobacter nitroguajacolicus* to salt stress. *Sci Rep*. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38398-2>
- Santiago, C. D., Yagi, S., Ijima, M., Nashimoto, T., Sawada, M., Ikeda, S., Asano, K., Orikasa, Y., Ohwada, T. Bacterial compatibility in combined inoculations enhances the growth of potatoes seedling. *Microbes and Environments*. 2017. doi: 10.1264/jsme2.ME16127
- Santoyo, G.; Guzmán-Guzmán, P.; Parra-Cota, F. I.; Santos-Villalobos, S. d.l.; Orozco-Mosqueda, M. d.C.; Glick, B. R. Plant Growth Stimulation by Microbial Consortia. *Agronomy* 2021. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>
- Santos, S. R. L. dos, Costa, R. M., Aviz, R. O., Melo, V. M. M., Lopes, A. C. A., Pereira, A. P. A., Mendes, L. W., Barbosa, R. S., Araujo, A. S. F. Differential plant growth-promoting rhizobacteria species selection by maize, cowpea, and lima bean. *Rizosphere*. 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100626>
- Sarma, B. K., Yadav, S. K., Singh, S., Singh, H. B. Microbial consortium-mediated plant defense against phytopathogens: Readdressing for enhancing efficacy. *Soil Biology and Biochemistry*. 2015. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.04.001>
- Silva Filho, G. N.; Vidor, C. Solubilização de fosfato por microrganismos na presença de fontes de carbono. *Rev. Bras. Cienc. Solo* 24, 311-319. 2000.
- Singh, M., Awasthi, A., Soni, S., Singh, R., Verma, R. K., Kalra, A. Complementarity among plant growth promoting traits in rhizospheric bacterial communities promotes plant growth. *Sci Rep.*, 2015. doi: <https://doi.org/10.1038/srep15500>

- Schwyn, B. and Neilands, J.B. (1987) Universal Chemical Assay for the Detection and Determination of Siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160, 47-56. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9)
- Souza, R., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet Mol Biol*. 2015. doi: 10.1590/S1415-475738420150053
- Tchakounté, G. V. T., Berger, B., Patz, S., Fankem, H., Ruppel, S. Community structure and plant growth-promoting potential of cultivable bacteria isolated from Cameroon soil. *Microbiological Research*. 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.05.008>
- Thompson, F. L., Hoste, B., Vandemeulebroecke, K., Swings, K., Genomic diversity amongst *Vibrio* isolates from different sources determined by fluorescent amplified fragment length polymorphism. **Syst. Appl. Microbiol.** 2001. Doi: <http://dx.doi.org/10.1078/0723-2020-00067>.
- Toribio-Jiménez, J., Rodríguez-Barrera, M. A., Hernández-Flores, G., Ruvalcaba-Ledezma, J. C., Castellanos-Escamilla, M., Romero-Ramírez, Y. Isolation and screening of bacteria from *Zea mays* plant growth promoters. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, 2017. doi: 10.20937/RICA.2017.33.esp01.13
- Vanini, C., Domingo, G., Fiorilli, V., Seco, D. G., Novero, M., Marsoni, M., Wisniewski-Dye, F., Bracale, M., Moulin, L., Bonfante, P. Proteomic analysis reveals how pairing of a mycorrhizal fungus with plant growth promoting bacteria modulates growth and defense in wheat. *Plant, Cell & Environment*. 2021. doi: <https://doi.org/10.1111/pce.14039>
- Vanissa, T. T. G., Berger, B., Patz, S., Becker, M., Tureckova, V., Novák O., Tarkwská, D., Henri, F., Ruppel, S. The response of maize to inoculation with *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. in phosphorous-deficient, salinity-affected soil. *Microorganisms*. 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071005>
- Verma, S. C., Ladha, J. K., Tripathi, A. K. (2001) Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J. Biotechnol.*, 91, pp. 127-141, doi:10.1016/S0168-1656(01)00333-9.
- Wahyudi, A. T., Priyanto, J. A., Fijrina, H. N., Mariastuti, H. D., Nawangsih, A. A. *Streptomyces* spp. from rhizosphere soil of maize with potential as plant growth promoter. *Bioversitas*. 2019. doi: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200916>
- Wang, Y., Liu, H., Shen, Z., Miao, Y., Wang, J., Jiang, X., Shen, Q., Li, R. Richness and antagonistic effects co-affect plant growth promotion by synthetic microbial consortia. *Applied Soil Ecology*. 2022 <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104300>
- Xu, X., Xu, M., Zhao, Q., Xia, Y., Chen, C., Shen, Z. Complete Genome Sequence of Cd(II)-Resistant *Arthrobacter* sp. PGP41, a Plant Growth-Promoting Bacterium with Potential in Microbe-Assisted Phytoremediation. *Curr Microbiol*. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1515-z>
- Yassue, R. M.; Carvalho, H. F.; Gevartosky, R.; Sabadin, F.; Souza, P. H.; Bonatelli, M. L.; Azevedo, J. L.; Quecine, M. Q.; Fritsche-Neto, R. On the genetic architecture in a public tropical maize panel of the symbiosis between corn and plant growth-promoting bacteria aiming to improve plant resilience. *Molecular breeding*. 2021. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11032-021-01257-6>.
- Youseif, S. H. Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria and their effects on the growth of maize plants under greenhouse conditions. *Annals of Agricultural Sciences*, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2018.04.002>.





### 3. COMPREENSÃO MOLECULAR DA INTERAÇÃO BACTERIANA EM CONSÓRCIOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

#### Resumo

A promoção de crescimento de plantas, tolerância a estresse e resistência a patógenos relacionados ao microbioma de plantas é de extrema importância do ponto de vista evolutivo e para a agricultura moderna, pois são pontos que conferem vantagem no *fitness* das plantas. A construção de comunidades sintéticas de microrganismos capazes de promover o crescimento de plantas direta e indiretamente possui cada vez mais potencial prático na agricultura bem como o estudo a nível molecular das características desejáveis em bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) visando compreender tais características de modo a auxiliar a seleção de BPCPs. O objetivo do presente estudo foi comparar consórcio composto por bactérias obtidas por isolamento de locais diferentes e consórcios compostos por bactérias obtidas do mesmo local (solo de milho). Além disso, comparar o desempenho na promoção de crescimento por bactérias utilizadas individualmente e em consórcio no consórcio que apresentou melhor desempenho no primeiro experimento. Em seguida, comparou-se o desempenho *in vitro* das mesmas bactérias utilizadas individualmente e em consórcio para produção de ácido-indol-3-acético (AIA) e solubilização de fosfato, seguido da comparação com a presença ou ausência dos genes relacionados à essas características nas linhagens bacterianas. O consórcio de origem diversa apresentou melhores resultados comparado aos consórcios formados por linhagens de origem semelhante, com aumento de massa seca de parte aérea entre 23 e 65%. Em um novo experimento comparando o consórcio de origem diversa com cada linhagem aplicada individualmente, o consórcio apresentou melhor desempenho em todas as variáveis avaliadas. Nos testes *in vitro* há variação nos resultados relacionados à produção de AIA, porém, observa-se que para solubilização de fosfato, a combinação de linhagens com *Pantoea agglomerans* 33.1 potencializa os resultados de solubilização de fosfato da linhagem. Os genes relacionados à promoção de crescimento nas linhagens presentes no consórcio taxonomicamente diverso apresentam 16% dos genes encontrados em todas as linhagens, 43% presentes em diversas combinações e 41% de genes exclusivos. Observou-se que dentre as linhagens *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9, *Deffia acidovorans* RZ4MS18 e *P. agglomerans* 33.1, apenas *D. acidovorans* RZ4MS18 e *P. agglomerans* 33.1 possuem uma via dependente de triptofano para produção de AIA completa. Para a disponibilização de fosfato, apesar de todas as linhagens apresentarem genes relacionados à solubilização de fosfato, apenas *P. agglomerans* 33.1 possui genes *pho*, codificadores de enzimas fitases, sendo também a única que apresentou resultado positivo em teste *in vitro*, mas que foram potencializados com o uso de algumas outras linhagens em consórcio. Em nossos resultados a presença dos genes não necessariamente foi condizente com os resultados obtidos em experimento *in vitro* para as características avaliadas.

**Palavras-chave:** BPCP, consórcio, milho, PGPT-Pred.

#### 3.1. Introdução

A microbiota associada às plantas confere vantagens no *fitness* das plantas hospedeiras por meio de mecanismos como promoção de crescimento de plantas, tolerância à estresses e resistência a patógenos. As comunidades associadas a plantas não são aleatoriamente selecionadas, mas possuem uma estrutura e organização filogenética. A construção e aplicação de comunidades sintéticas de microrganismos com características de promoção de crescimento tem cada vez mais potencial para aplicação prática (Trivedi et al., 2020).

Apesar dos benefícios de se utilizar mais de uma linhagem bacteriana na inoculação (Vanini et al., 2021; Mogal et al., 2020; Olanrewaju, Babalola, 2019; Kong et al., 2018; Armada et al., 2016; Couillerot et al., 2013; Jha, Saraf, 2012), os bioestimulantes disponíveis no mercado geralmente estão limitados a um ou poucos táxons microbianos (Santoyo et al., 2021; Kong et al., 2018). Parte dos estudos com consórcios bacterianos utiliza linhagens obtidas de diversos locais (Mogal et al., 2020; Souza et al., 2015), porém, estudos com comunidades formadas por linhagens obtidas do mesmo local também apresentam sucesso nos resultados (Armanhi et al., 2018).

O uso de *Bradyrhizobium* spp. e *Rhizobium* spp. com outras bactérias, como *Azospirillum brasilense* e espécies de *Bacillus* em soja é um exemplo que tem ganhado destaque nas pesquisas envolvendo consórcios contendo diferentes espécies bacterianas, isoladas de plantas diferente da que ocorre a aplicação, devido ao aumento de produtividade e qualidade de grão (Moretti et al., 2020). Inoculantes comerciais também tem utilizado misturas de

diversos gêneros bacterianos, obtidos de diversas fontes e aplicados em muitas culturas, como no caso de um consórcio composto por 22 linhagens bacterianas, utilizado em hortaliças, frutíferas, soja, cana-de-açúcar, milho e outras culturas (Bradáčová et al., 2019; Lopez-Cervantes e Thorpe, 2013). BiomaPhos® é um produto comercial no Brasil composto por *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119 isolados de milho, recomendado para além do milho, aplicação em soja com ganho em produtividade de 7,8% (Oliveira-Paiva et al., 2021). Estudos em trigo indicam que a aplicação de BiomaPhos® junto com *Azospirillum brasilense* aumenta a massa de mil grãos de trigo em aproximadamente 4 gramas (Izidro, 2023). Estudos também tem sido realizados em sorgo combinando BiomaPhos® e *Azospirillum brasilense* comercial (Pereira et al., 2023), cenoura (Barbosa e Pereira, 2022), feijoeiro-comum (Bittencourt et al., 2022) e cana-de-açúcar (Teixeira, 2023). Em milho, um consórcio formado por *Sphingomonas* sp. PF178, *Azospirillum brasilense* Sp7 e *Acinetobacter* sp. EMM02 obtidos de diferentes fontes promove crescimento de planta mesmo em condições em presença de condições de seca (Molina-Romero et al., 2017).

Também é observado na literatura que utilizar linhagens bacterianas isoladas da mesma planta pode apresentar resultados positivos, como o consórcio formado por bactérias pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Streptomyces* e *Bacillus* isolados de milho e com potencial de promover crescimento de milho (Olanrewaju, Babalola, 2019). A mitigação de efeitos abióticos além da promoção de crescimento de plantas é observada no consórcio formado por linhagens bacterianas isoladas de milho, composto pelos gêneros *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Ensifer*, *Lysobacter*, *Pedobacter*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* e *Variovorax* (Armanhi et al., 2021). Observa-se resultados semelhantes em Saleem et al. (2021).

Investigar as interações entre planta-microrganismos requer ferramentas multidisciplinares que possam integrar os diferentes tipos de dados da planta e seu microbioma (Armanhi et al., 2021). O conhecimento sobre os mecanismos e a genética vegetal envolvidos nas relações planta-microrganismo é uma ferramenta que gera potencial para melhorias sustentáveis baseadas no microbioma das culturas (Bakker et al., 2018).

A falta de abordagens computacionais direcionadas às características associadas a promoção de crescimento vegetal dificulta a comparação *in silico* para obtenção de novas espécies bacterianas fitoestimulantes. A ferramenta PLant-associated BActeria web resource (PLaBAse) surge para suprir a demanda através do PGPT-Pred, uma coleção de 6.900 características relacionadas à promoção de crescimento de plantas, associados a 6.965.955 sequências de proteínas (Patz et al., 2021). Por meio dessa ferramenta, Raj et al. (2023) investigaram características relacionadas à promoção de crescimento vegetal de 31 rizobactérias isoladas de *Hypericum perforatum*, importante planta medicinal na Índia. Observaram genes únicos em duas linhagens, relacionados a diminuição de estresse oxidativo e abiótico que podem ser justificados por altitudes maiores no local onde foram obtidas as linhagens. Maddock et al. (2022) realizaram análise de novas espécies através do PLaBAse visando a classificação da linhagem *Leclervia tamurae*.

Neste estudo foi comparado o consórcio composto por bactérias isoladas de diferentes plantas e previamente já estabelecida pelo nosso grupo de pesquisa (Yassue et al., 2021) e consórcio composto por bactérias isoladas de solo de milho. O consórcio composto por bactérias isoladas de diferentes locais apresentou melhores resultados comparado aos consórcios formados por linhagens bacterianas obtidas do mesmo local. Em relação ao controle, o consórcio obtido de locais diversos apresentou maior comprimento de parte aérea e massa seca de parte aérea. O genoma das linhagens presentes no consorcio de melhor resposta tiveram sua completude relacionada a promoção de crescimento avaliada. A presença de genes relacionados à promoção de crescimento de plantas nos genomas bacteriano nesse caso, nem sempre correspondeu à capacidade de realizar tal característica nos experimentos *in vitro*, sendo que muitas vezes o gene estava presente, mas não houve resposta positiva nos

experimentos previamente realizados. Alguns genes chave podem não estar presentes apesar de outros genes relacionados às características serem encontrados no genoma, além disso, o sistema regulatório de genes relacionados à promoção de crescimento vegetal ainda são pouco investigados.

## 3.2 Materiais e Métodos

### 3.2.1 Material biológico

As linhagens bacterianas foram obtidas da coleção de microrganismos do Laboratório de Genética de Microrganismos “Professor João Lúcio de Azevedo”, localizado no Departamento de Genética da ESALQ/USP.

Para o consórcio obtido de locais diversos (Consórcio 1), foram selecionadas as linhagens *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9 que já possui resultados como promotora de crescimento de milho e soja, *Delftia acidovorans* RZ4MS18 que tem apresentado potencial na promoção de crescimento de plantas, ambas isoladas do guaranazeiro (*Paullinia cupana*) (Batista et al., 2018); *Azospirillum brasilense* Ab-V5 descrito como promotora de crescimento de plantas e inoculante comercial para milho, isolado de plantas de milho (*Zea mays*) (Hungria et al., 2010); *Pantoea agglomerans* 33.1 apontada como promotora de crescimento de planta, isolada de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) (Quecine et al., 2012) (Tabela 1).

Para os consórcios obtidos de mesmo local de isolamento (Consórcio 2 e Consórcio 3), foram utilizadas linhagens previamente testadas quanto às características fisiológicas relacionadas à promoção de crescimento de plantas, compatibilidade através de teste de antibiose, bem como utilizadas em experimento em casa de vegetação (Capítulo 1). As linhagens foram isoladas de solo de milho, e identificadas com CNM (comunidade nativa do milho) acompanhada de um número. Para o experimento, foram selecionados dois consórcios utilizando as CNMs: *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05 *Siphonobacter* sp. CNM19, *Priestia* sp. CNM25 e *Streptomyces* sp. CNM02, *Arthrobacter* sp. CNM05 *Siphonobacter* sp. CNM19, *Priestia* sp. CNM34 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Linhagens bacterianas utilizadas nos consórcios

Consórcio 1				
Linhagens	Classificação	Local de isolamento	Características relacionadas à promoção de crescimento	Referências
<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	Bactéria / Pseudomonadota / Alphaproteobacteria / Rhodospirillales / Azospirillaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, produção de AIA, produção de ACC desaminase, produção de EPS, formação de biofilme	Hungria et al., 2010
<i>Bacillus thuringiensis</i> RZ2MS9	Bactéria / Bacillota / Bacilli / Bacillales / Bacillaceae	Guaranazeiro ( <i>Paullinia cupana</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, produção de AIA, produção de sideróforos, produção de ACC desaminase,	Batista et al., 2018

<i>Delftia acidovorans</i> RZ4MS18	Bactéria / Pseudomonadota / Betaproteobacteria / Burkholderiales / Comamonadaceae	Guaranazeiro ( <i>Paullinia cupana</i> )	Produção de AIA, produção de ACC desaminase, produção de EPS, formação de biofilme	Batista et al., 2018
<i>Pantoea agglomerans</i> 33.1	Bactéria / Pseudomonadota / Gammaproteobacteria / Enterobacterales / Erwiniaceae	Eucalipto ( <i>Eucalyptus</i> <i>grandis</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, produção de AIA, produção de sideróforos, produção de ACC desaminase, produção de EPS, formação de biofilme	Quecine et al., 2012
Consórcio 2				
Linhasgens	Classificação	Local de isolamento	Características relacionadas à promoção de crescimento	Referências
<i>Arthrobacter</i> sp. CNM05	Bactéria / Actinomycetota / Actinomycetes / Micrococcales / Micrococcaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, produção de AIA, produção de ACC desaminase, produção de EPS, formação de biofilme	Não publicado
<i>Priestia</i> sp. CNM25	Bactéria / Bacillota / Bacilli / Bacillales / Bacillaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, produção de AIA, produção de ACC desaminase, produção de EPS, formação de biofilme	Não publicado
<i>Siphanobacter</i> sp. CNM19	Bactéria / Bacteroidota / Cytophagia / Cytophagales / Cytophagaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Produção de AIA, produção de ACC desaminase, formação de biofilme	Não publicado
<i>Streptomyces</i> sp. CNM02	Bactéria / Actinomycetota / Actinomycetes / Kitasatosporales / Streptomycetaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, produção de AIA, produção de ACC desaminase, formação de biofilme	Não publicado
Consórcio 3				
<i>Arthrobacter</i> sp. CNM05	Bactéria / Actinomycetota / Actinomycetes / Micrococcales / Micrococcaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, produção de AIA, produção de ACC desaminase, produção de EPS, formação de biofilme	Não publicado

<i>Priestia</i> sp. CNM34	Bactéria / Bacillota / Bacilli / Bacillales / Bacillaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, produção de AIA, produção de ACC desaminase, produção de EPS, formação de biofilme	Não publicado
<i>Siphonobacter</i> sp. CNM19	Bactéria / Bacteroidota / Cytophagia / Cytophagales / Cytophagaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Produção de AIA, produção de ACC desaminase, formação de biofilme	Não publicado
<i>Streptomyces</i> sp. CNM02	Bactéria / Actinomycetota / Actinomycetes / Kitasatosporales / Streptomycetaceae	Milho ( <i>Zea mays</i> )	Fixação biológica de nitrogênio, produção de AIA, produção de ACC desaminase, formação de biofilme	Não publicado

---

AIA: ácido indol-acético; ACC: aminociclopropano carboxilato; EPS: exopolissacarídeos

### 3.2.2 Ensaio em casa de vegetação comparando consórcios

No primeiro experimento visando verificar a eficácia dos consórcios bacterianos, foram utilizados quatro tratamentos, sendo eles: consórcio de origem diversa (Ab-V5 + RZ2MS9 + RZ4MS18 + 33.1); CNM02 + CNM05 + CNM19 + CNM25; CNM02 + CNM05 + CNM19 + CNM34; controle. Utilizou-se vasos plásticos com capacidade de 2,6 litros, substrato comercial e três sementes de milho da variedade DKB390 PRO Dekalb (híbrido precoce; altura de planta de 2,25 a 2,45 m; altura da espiga de 1,25 a 1,40 m; arquitetura foliar semi-ereta; grão de coloração amarelo alaranjado e textura semi-duro) em cada vaso, seguido de inoculação de 500 µl de suspensão bacteriana em tampão PBS por semente. Para o tratamento controle, utilizou-se meio de cultura diluído em tampão PBS com proporções semelhantes aos tratamentos que possuem bactérias.

### 3.2.3 Ensaio em casa de vegetação com consórcio de melhor desempenho

No primeiro experimento em casa de vegetação (3.2.3), os melhores resultados foram observados no consórcio de origem diversa. Logo, no segundo experimento, foram utilizados seis tratamentos: consórcio de origem diversa (Ab-V5 + RZ2MS9 + RZ4MS18 + 33.1); *Azospirillum brasilense* Ab-V5; *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9; *Delftia acidovorans* RZ4MS18; *Pantoea agglomerans* 33.1; controle. Utilizou-se vasos plásticos com capacidade de 2,6 litros, substrato comercial e três sementes de milho da variedade DKB390 PRO Dekalb (híbrido precoce; altura de planta de 2,25 a 2,45 m; altura da espiga de 1,25 a 1,40 m; arquitetura foliar semi-ereta; grão de coloração amarelo alaranjado e textura semi-duro) em cada vaso seguido de inoculação de 500 µl de suspensão bacteriana em tampão PBS por semente. Para o tratamento controle, utilizou-se meio de cultura diluído em tampão PBS com proporções semelhantes aos tratamentos que possuem bactérias.

### 3.2.4 Análise dos genomas bacterianos

Foram avaliados os genomas bacterianos das linhagens *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9, *Pantoea agglomerans* 33.1 e *Delftia acidovorans* RZ4MS18. Apenas *Delftia acidovorans* RZ4MS18 não possui o genoma depositado. Na Tabela 2 destaca-se o número de acesso para cada genoma depositado no GenBank.

**Tabela 2.** Linhagens, número de acesso dos genomas e características

Linhagem	Número de acesso	Características do genoma	Referência
<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	<a href="#">POQV00000000.1</a>	6.934.595 pb; 68,4% G+C; 6.349 CDSs; 1 plasmídeo	Hungria et al., 2018
<i>Bacillus thuringiensis</i> RZ2MS9	<a href="#">CP049978.1</a>	5.357.194 pb; 35,22% G+C; 5.315 CDSs	Bonatelli et al., 2020
<i>Pantoea agglomerans</i> 33.1	<a href="#">GCF_020149765.1</a>	4.087.626 pb; 4.526 CDSs; 4 plasmídeos	Bonatelli et al., 2021

CDSs – DNA coding sequences (sequências codantes de DNA).

Para as linhagens já depositadas, realizou-se download da anotação contendo as sequências de aminoácidos. Para *Delftia acidovorans* RZ4MS18, utilizou-se a anotação no PROKKA (Rapid prokaryotic genome annotation) e sua sequência de aminoácidos. Em seguida, os dados foram inseridos no PLaBAsE, especificamente, utilizou-se a ferramenta PGPT-Pred para predição de genes relacionados às características de promoção de crescimento de plantas através de Blastp e hmmer. Com os dados obtidos, foram construídos gráficos através do pacote ggplot2 no RStudio.

### 3.2.5 Comparação das características testadas *in vitro* e presença de genes nos genomas bacterianos

#### 3.2.5.1 Produção de ácido-indol-3-acético

A produção de ácido-indol-3-acético (AIA) foi estimada de acordo com a metodologia proposta por Husen (2013) adaptado de Bric et al. (1991). As linhagens foram cultivadas em meio TSB líquido 10% suplementado com L-triptofano 5 mM no escuro por 72 horas em agitador a 150 rpm e 28 °C. Após, o sobrenadante foi misturado com 1 mL do reagente de Salkowski e a produção de AIA pelas linhagens foi estimada utilizando um modelo de regressão linear com base em uma curva-padrão de concentrações definidas de AIA à OD530nm. Como tratamentos, foram utilizadas as linhagens *Azospirillum brasilense* Ab-V5; *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9; *Delftia acidovorans* RZ4MS18; *Pantoea agglomerans* 33.1 separadamente, em combinações dois a dois, em combinações três a três e todas juntas.

#### 3.2.5.2 Solubilização de fosfato

A capacidade das linhagens de solubilizar fosfato inorgânico foi indicada por meio da formação de halo de solubilização obtido após o cultivo da linhagem em meio de fosfato descrito por Verma et al. (2001) a 28 °C por 10 dias. A razão entre o diâmetro do halo (cm) e o diâmetro da colônia (cm) foi estimada gerando um índice enzimático de solubilização de fosfato (ISF) (Silva Filho e Vidor, 2000). Como tratamentos, foram utilizadas as linhagens

*Azospirillum brasilense* Ab-V5; *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9; *Delftia acidovorans* RZ4MS18; *Pantoea agglomerans* 33.1 separadamente, em combinações dois a dois, em combinações três a três e todas juntas.

### 3.2.5.3 Busca por genes relacionados a produção de AIA e solubilização de fosfato nos genomas

Foram comparados os genes referentes à capacidade de produzir AIA e solubilizar fosfato, visando contrastar com dados obtidos *in vitro*. As vias de produção de AIA avaliadas contam com vias dependentes e vias independentes de triptofano descritas em Spaepen et al. (2007) e foram buscados os genes nos resultados obtidos através do PGPT-Pred. As rotas relacionadas à solubilização de fosfato ainda são pouco estudadas, mas utiliza-se genes *gdc* como marcador para solubilização inorgânica e *pbo* e *phy* para aquisição de fosfato orgânico (Rasul et al., 2021). Além dos genes marcadores, serão buscados nos genomas os genes descritos em Santos-Beneit (2015) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Lista de genes relacionados à produção de AIA e solubilização de fosfato buscados nos resultados do PGPT-Pred

Gene	Característica	Referências
<i>iaaM</i>	AIA	Spaepen et al., 2007
<i>iaaH</i>	AIA	Spaepen et al., 2007
<i>ipdC</i>	AIA	Spaepen et al., 2007
<i>chaO</i>	AIA	Spaepen et al., 2007
<i>trp</i> (vários)	AIA	Spaepen et al., 2007
<i>ami1</i>	AIA	Spaepen et al., 2007
<i>aldA</i>	AIA	Spaepen et al., 2007
<i>gdc</i>	Solubilização de fosfato	Rasul et al., 2021
<i>pbo</i> (vários)	Solubilização de fosfato	Rasul et al., 2021 e Santos-Beneit, 2015
<i>phy</i> (vários)	Solubilização de fosfato	Rasul et al., 2021
<i>pst</i> (vários)	Solubilização de fosfato	Santos-Beneit, 2015
<i>resD</i>	Solubilização de fosfato	Santos-Beneit, 2015
<i>resE</i>	Solubilização de fosfato	Santos-Beneit, 2015
<i>spo0B</i>	Solubilização de fosfato	Santos-Beneit, 2015
<i>spo0A</i>	Solubilização de fosfato	Santos-Beneit, 2015
<i>abrB</i>	Solubilização de fosfato	Santos-Beneit, 2015
<i>seoC</i>	Solubilização de fosfato	Santos-Beneit, 2015
<i>cspA</i>	Solubilização de fosfato	Santos-Beneit, 2015

AIA – ácido-3-indol-acético

Considerando que o teste realizado *in vitro* inclui o uso de triptofano, buscou-se analisar com maior precisão os genes relacionados às vias dependentes de triptofano para produção de AIA. As vias dependentes de triptofano



para a produção de AIA são bem descritas, e utilizou-se o estudo adaptado de Zang et al. (2019) para busca de genes que codificam as enzimas das vias através de anotação automática (*A. brasilense* Ab-V5, *B. thuringiensis* RZ2MS9 e *P. agglomerans* 33.1), RAST (*D. acidovorans* RZ4MS18) e PROKKA (*D. acidovorans* RZ4MS18).

### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Comparação entre consórcios

O consórcio de origem diversa (*Azospirillum brasilense* Ab-V5; *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9; *Delftia acidovorans* RZ4MS18; *Pantoea agglomerans* 33.1) apresentou melhor resultado no aumento de massa seca de parte aérea. Entre os dois consórcios de mesma origem, destaca-se o desempenho de CNM02 + CNM05 + CNM19 + CNM25, porém, não há diferença estatística significativa entre o consórcio CNM02 + CNM05 + CNM19 + CNM25 e o controle. Há diferença estatística significativa entre o consórcio CNM02 + CNM05 + CNM19 + CNM34 e o restante dos tratamentos, sendo que o consórcio com *Priestia* sp. CNM34 apresentou a pior média em massa seca de parte aérea (Tabela 4). Não houve diferença estatística significativa entre as médias de tratamento nas outras variáveis avaliadas, porém, o consórcio de origem diversa apresentou maior massa seca de raiz. Nas variáveis comprimento, o tratamento controle possui maiores valores.

**Tabela 4.** Comparação das médias das variáveis avaliadas entre os tratamentos.

Tratamento	Comprimento de parte aérea (cm)	Comprimento de raiz (cm)	Massa seca de parte aérea (mg)	Massa seca de raiz (mg)
Controle	23,76 a	59,17 a	28,26 ab	74,06 a
Consórcio origem diversa	22,33 a	53,26 a	32,15 a	78,60 a
CNM02+CNM05+CNM19+CNM25	22,27 a	54,18 a	26,15 ab	75,50 a
CNM02+CNM05+CNM19+CNM34	23,27 a	51,64 a	19,42 b	58,79 a

#### 3.3.2 Promoção de crescimento em consórcio de origem diversa

No segundo experimento, foram restados consórcio obtido de locais diversos, as linhagens que compõe o consórcio inoculadas individualmente e um tratamento controle. Dessa vez, tanto massa seca de parte aérea quanto massa seca de raiz apresentaram diferença estatística significativa (Tabela 5), sendo o consórcio melhor que os outros tratamentos em ambas variáveis. Apesar de não haver diferença estatística significativa, para as variáveis comprimento também observa-se maiores valores no consórcio quando comparado aos outros tratamentos. Pode-se observar a diferença visualmente, apesar de estatisticamente os comprimentos serem iguais (Figura 1).

**Tabela 5.** Diferença estatística entre médias das variáveis massa seca de parte aérea (mg) e massa seca de raiz (mg) entre os tratamentos avaliados por Scott-Knott.

Tratamento	Comprimento de parte aérea (cm)	Comprimento de raiz (cm)	Massa seca de parte aérea (mg)	Massa seca de raiz (mg)
Controle	16,92 a	51,12 a	62,00 b	82,40 a
Consórcio	18,90 a	53,02 a	81,85 a	84,90 a
RZ2MS9	18,22 a	47,12 a	65,80 b	75,40 a
Ab-V5	18,27 a	50,87 a	63,20 b	62,02 b
33.1	18,60 a	48,22 a	61,72 b	58,07 b
RZ4MS18	17,62 a	47,55 a	55,07 b	64,42 b



**Figura 1.** Plantas dos tratamentos avaliados.

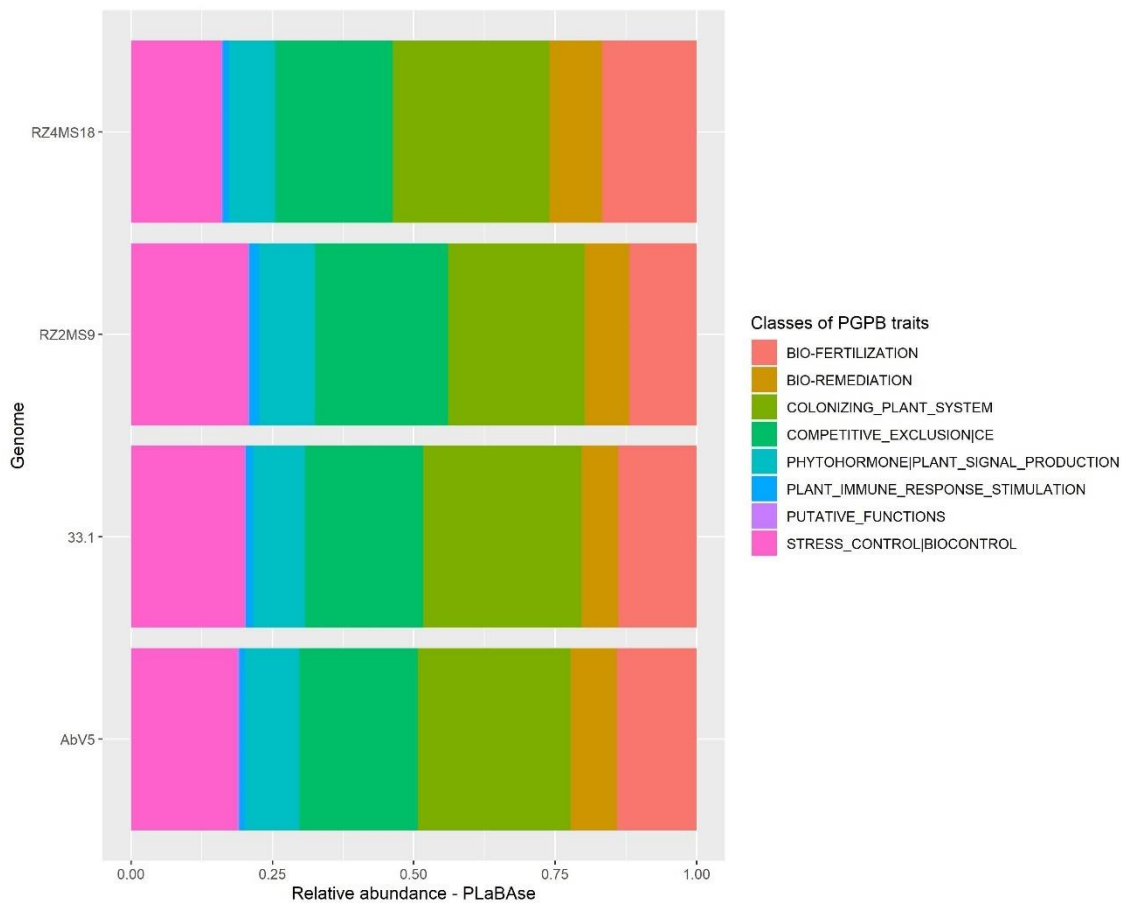
### 3.3.3 Análise comparativa de genes relacionados à promoção de crescimento de plantas nos genomas bacterianos

Dos dados obtidos junto ao programa PLant-associated BActeria web resource (PLaBAse), Plant growth promoting traits predictor (PGPT-Pred), separou-se as categorias fornecidas pela ferramenta e que foram de maior interesse segundo os dados já avaliados in vitro para as linhagens estudadas.

Na Figura 2 observamos os dados de nível 2, com as classes divididas em biofertilização, biorremediação, sistema de colonização de plantas, competição por exclusão, produção de fitormônios, estímulo de resposta imune, funções putativas e controle de estresse/biocontrole.

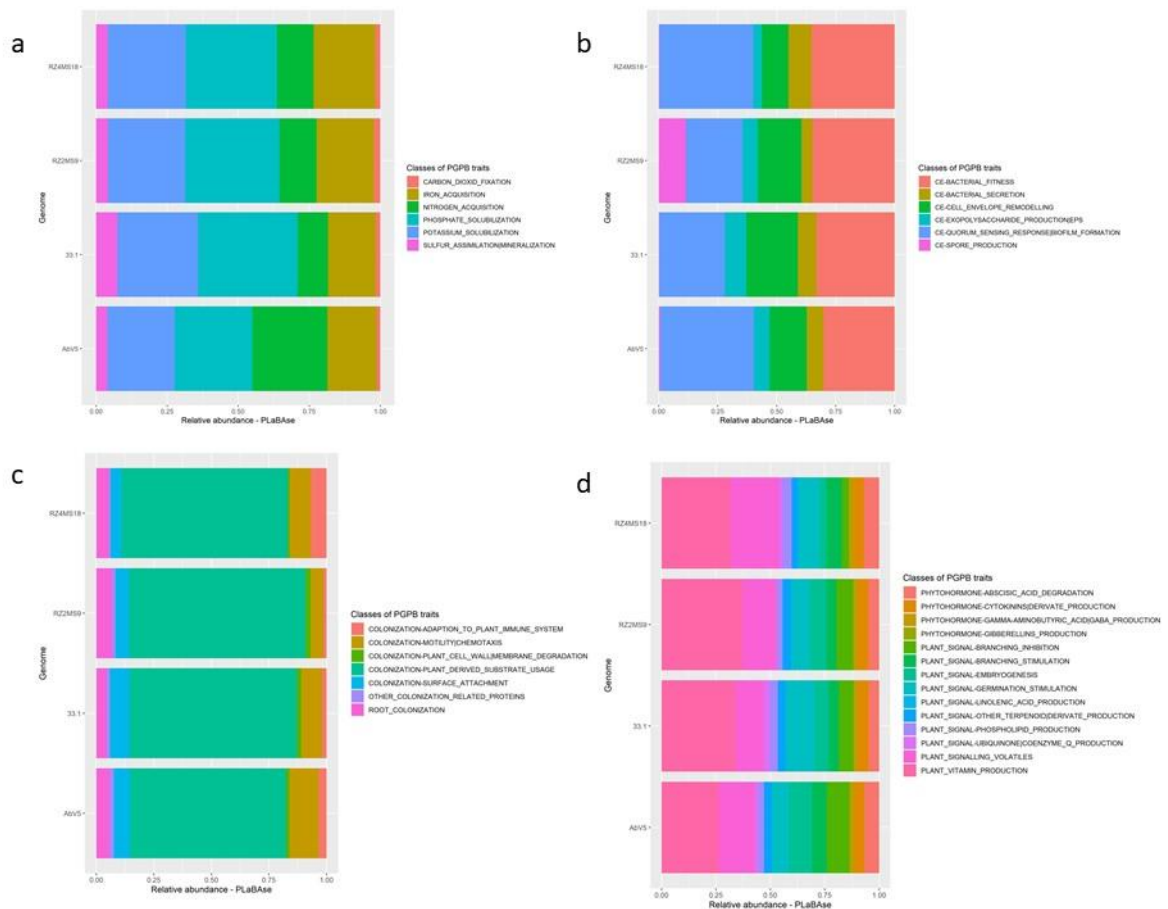
Observa-se que as características sistema de colonização de plantas (24 a 28% dos genes presentes no genoma) e competição por exclusão (21 a 23%) representam a maior parte dos genes presentes nas linhagens estudadas. Quanto à biofertilização, observa-se que os valores variam de 11 a 17% dos genes presentes no genoma, e os genes

responsáveis pela produção de fitormônios, de 8 a 10%. Controle de estresse/biocontrole variam de 16 a 21%. Estímulo de resposta imune e funções putativas são pouco significativas, sendo a primeira de 1 a 2% dos genes e a segunda, 0,1 a 0,3%.



**Figura 2.** Características de promoção de crescimento de plantas classificadas como nível 2. RZ4MS18: *Delftia acidovorans*; RZ2MS9: *Bacillus thuringiensis*; 33.1: *Pantoea agglomerans*; Ab-V5: *Azospirillum brasilense*.

Para os itens de interesse do nível 2, foram gerados gráficos com dados do nível 3, que apresenta as funções de modo mais detalhado. Dessa forma, utilizou-se os tópicos biofertilização (Figura 3a), competição por exclusão (Figura 3b), sistema de colonização de plantas (Figura 3c) e produção de fitormônios (Figura 3d).



**Figura 3.** Características de promoção de crescimento no nível 3. a. características de biofertilização; b. características de competição por exclusão; c. características de colonização; d. características de produção de fitormônios.

Com relação às características de biofertilização, a fixação de dióxido de carbono varia entre 0,2 e 0,4% dos genes estudados no nível 3. Para aquisição de ferro, os valores são de 3 a 5%. Já para aquisição de nitrogênio, 2 a 5%. Dentre as características de biofertilização, a solubilização de fosfato é a mais expressiva, representando de 5 a 7% dos genes estudados no nível 3. Solubilização de potássio representa de 3 a 6% e assimilação/mineralização de enxofre, de 0,7 a 1%.

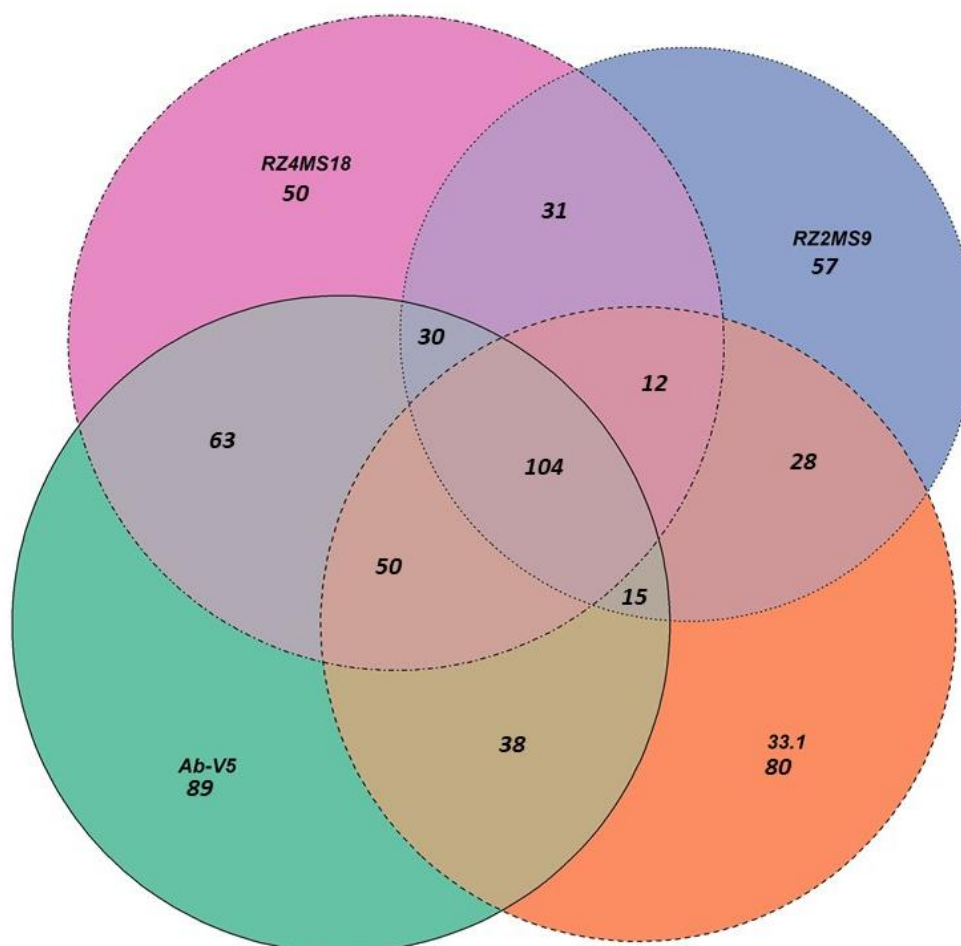
Em competição por exclusão, observa-se que genes relacionados ao fitness bacteriano são de 9 a 12% dos genes estudados no nível 3. Sistema de secreção bacteriana, 0,8 a 3%; remodelamento do envelope celular, 2 a 6%; produção de exopolissacarídeos, 1 a 3%; sistema quorum sensing e formação de biofilme corresponde de 6 a 12% dos genes. Para os genes de formação de esporo, a maioria apresenta valores insignificantes. Destacam-se *A. brasilense* Ab-V5 com 0,2% e *B. thuringiensis* RZ2MS9 com 0,4%.

Para as características de sistema de colonização de plantas observa-se que o mais expressivo são os genes relacionados ao uso de substratos derivados, representando de 26 a 28%. A adaptação ao sistema imune da planta representa de 0,5 a 2% dos genes estudados no nível 3; motilidade e quimiotaxia de 2 a 5%; degradação de membrana e parede celular de 0,3 a 1%. Fixação em superfície, de 2 a 3%; colonização de raízes em torno de 2% em todos os genomas e outros modos de colonização, de 0,2 a 1%.

Com relação aos fitormônios, a degradação de ácido absísico (ABA) corresponde de 0,6 a 0,8%; produção de citocinina, 0,4 a 0,6%; ácido gama-aminobutírico (GABA), 0,3% em todas as linhagens. Genes relacionados à

produção de giberelinas são insignificantes ou inexistentes. Inibição de ramificação, 0,3 a 1%; estímulo de ramificação, 0,6 a 0,9%. Embriogênese, 0,4 a 1%; estímulo à germinação, de 1 a 2. Voláteis, de 2 a 3%; ácido linoleico, inexistente ou insignificante. Outros terpenóides, de 0,3 a 0,6. Fosfolipídeos, 0,4 a 0,5%. Ubiquinonas, abaixo de 0,1 até 0,3%. Vitamina de plantas, de 2 a 5%.

No diagrama de Venn a seguir (Figura 4), constatamos que dos 664 genes estudados diretamente relacionados à aquisição de ferro por sideróforos, aquisição de nitrogênio, solubilização de fósforo, produção de ácido indol-acético, colonização de raízes e produção de exopolissacarídeos, características já avaliadas anteriormente in vitro nas linhagens utilizadas, 104 são encontrados nas quatro linhagens. *Azospirillum brasilense* Ab-V5 possui 89 genes exclusivos, *Pantoea agglomerans* 33.1 possui 80 genes exclusivos, *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9 possui 57 genes exclusivos e *Delftia acidovorans* RZ4MS18, 50 genes exclusivos relacionados às características de promoção de crescimento de plantas.

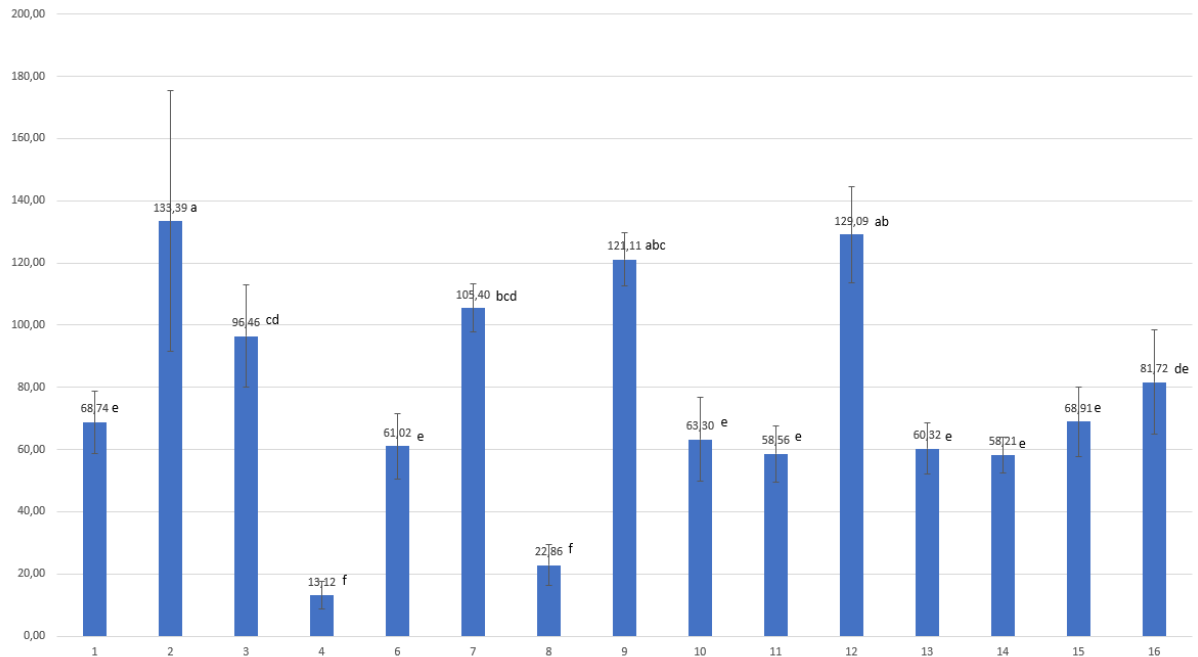


**Figura 4.** Diagrama de Venn dos genes em comum e exclusivos de cada linhagem bacteriana utilizada no consórcio de origem diversa. Ab-B5 = *A. brasilense* Ab-V5; 33.1 = *P. agglomerans* 33.1; RZ2MS9 = *B. thuringiensis* RZ2MS9; RZ4MS18 = *Delftia acidovorans* RZ4MS18.

### 3.3.4 Características de promoção de crescimento de plantas e presença de genes

Posteriormente caracterizados in vitro, observa-se na Figura 5 a produção de AIA de todas as combinações possíveis do consórcio formado por *A. brasilense* Ab-V5, *P. agglomerans* 33.1, *B. thuringiensis* RZ2MS9 e *D. acidovorans*

RZ4MS18. Todas as linhagens individualmente são capazes de produzir algum nível de AIA, sendo *D. acidovorans* a que mais produz AIA (133,39 µg/ml), e estatisticamente diferente das outras linhagens individuais. *B. thuringiensis* RZ2MS9 (13,12 µg/ml) apresenta os piores resultados dentre todos os tratamentos juntamente com a combinação *A. brasilense* Ab-V5 + *B. thuringiensis* RZ2MS9 (22,86 µg/ml). Todas as linhagens juntas apresentam média de 81,75 µg/ml de AIA, com desempenho intermediário se comparado aos outros tratamentos. Destacam-se as combinações *P. agglomerans* 33.1 + *D. acidovorans* RZ4MS18 + *A. brasilense* Ab-V5 (129,09 µg/ml), *D. acidovorans* RZ4MS18 + *P. agglomerans* 33.1 (121,11 µg/ml) e *A. brasilense* Ab-V5 + *P. agglomerans* 33.1 (105,40 µg/ml).



**Figura 5.** Médias de produção de AIA em µg/ml para cada tratamento, seguido da diferença estatística obtida através do teste não paramétrico LSD. 1 = *A. brasilense* Ab-V5; 2 – *D. acidovorans* RZ4MS18; 3 – *Pantoea agglomerans* 33.1; 4 – *B. thuringiensis* RZ2MS9; 6 – Ab-V5+RZ4MS18; 7 – Ab-V5+33.1; 8 – Ab-V5+RZ2MS9; 9 – RZ4MS18+33.1; 10 – RZ4MS18+RZ2MS9; 11 – 33.1+RZ2MS9; 12 – 33.1+RZ4MS18+Ab-V5; 13 – RZ2MS9+Ab-V5+RZ4MS18; 14 – RZ2MS9+33.1+Ab-V5; 15 – RZ2MS9+33.1+RZ4MS18; 16 – Ab-V5+RZ4MS18+Ab-V5+RZ2MS9.

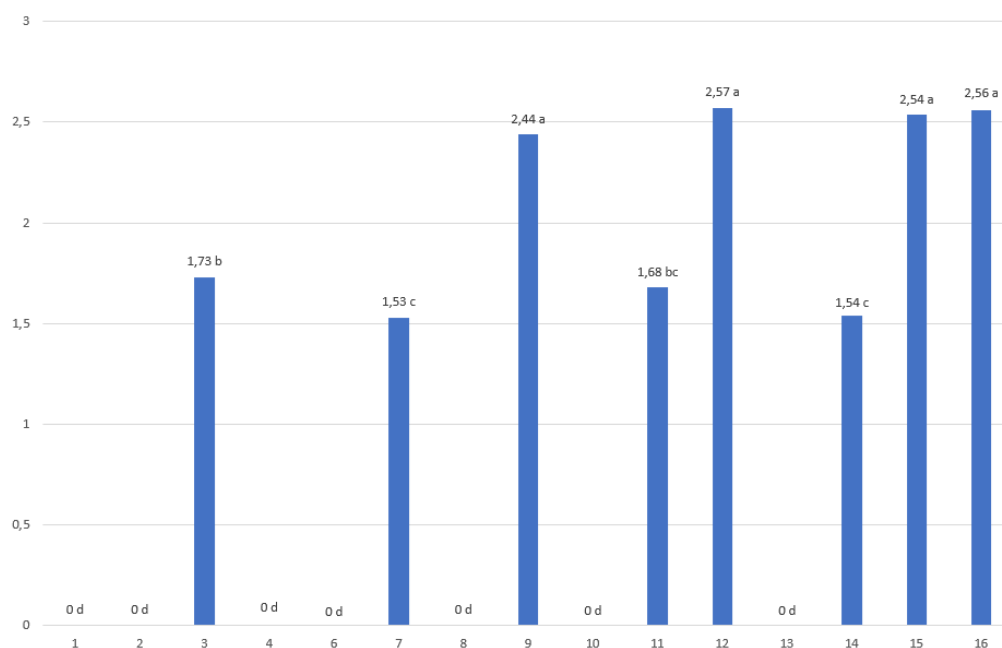
Grande parte dos genes descritos no artigo utilizado não foram encontrados nos genomas bacterianos. Apenas os genes *trp* foram encontrados em todas as linhagens. O gene *idpC* foi encontrado em *A. brasilense* Ab-V5 e *D. acidovorans* RZ4MS18. Outros genes além dos selecionados foram encontrados e estão relacionados à via dependente de AIA e à via de indol-3-acetaldeído (Tabela 6).

**Tabela 6.** Genes relacionados à produção de AIA encontrados nos genomas bacterianos

Gene	Ab-V5	RZ2MS9	RZ4MS18	33.1
<i>iaam</i>	x	x	x	x
<i>iaaH</i>	x	x	x	x
<i>idpC</i>	P	x	P	x
<i>chaO</i>	x	x	x	x
<i>trp</i>	ABCDEFGGS	ABCDEFGGS	ABCDEFRS	ABCDEFGGS
<i>ami1</i>	x	x	x	x
<i>aldA</i>	x	x	x	x
Outros	<i>amiE</i> , <i>aldBH</i> , <i>iaaT</i> , <i>nthAB</i> , <i>nitA</i> , <i>lysN</i> , <i>yugH</i>	<i>amiE</i> , <i>aldH</i> , <i>dbaS</i> , <i>poxL</i> , <i>patA</i> , <i>bioA</i> , <i>yhxA</i> , <i>yodT</i> , <i>yugH</i>	<i>amiE</i> , <i>aldABH</i> , <i>betB</i> , <i>nitABR1</i> , <i>lysN</i> , <i>patA</i> , <i>pweE</i> , <i>yodT</i>	<i>aldABH</i> , <i>iaaT</i> , <i>aspC</i> , <i>nitABR1</i> , <i>solA</i>

Ab-B5 = *A. brasilense* Ab-V5; 33.1 = *P. agglomerans* 33.1; RZ2MS9 = *B. thuringiensis* RZ2MS9; RZ4MS18 = *Delftia acidovorans* RZ4MS18. As letras “x” indicam a ausência, “P” indica a presença do gene e sequências de letras indicam a presença de mais de um gene, de acordo com o que foi encontrado.

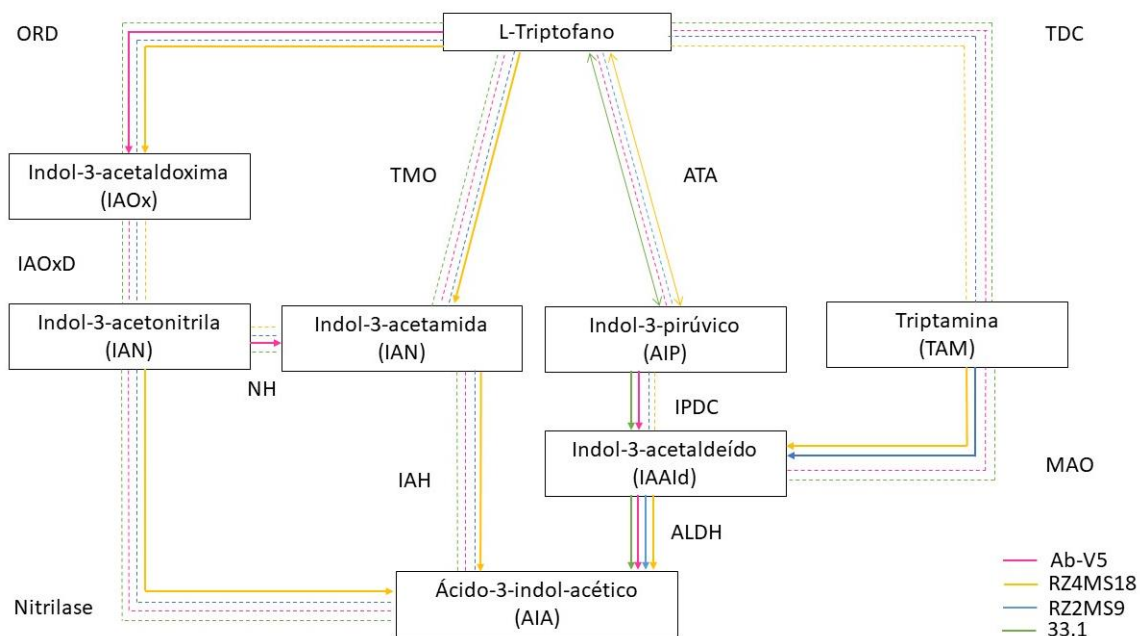
Com relação aos resultados *in vitro* de solubilização de fósforo, na figura 6 são descritos os resultados de média do índice de solubilização de fósforo após 14 dias de inoculação, acompanhados do resultado estatístico obtido pelo teste LSD. Dentre as quatro linhagens, apenas *P. agglomerans* 33.1 apresentou capacidade de solubilizar fósforo apesar de ser relatado a ocorrência em *B. thuringiensis* RZ2MS9 (Batista et al., 2018). Todos os tratamentos onde ocorreu solubilização de fósforo, há presença de *P. agglomerans* 33.1, sendo potencializado o resultado quando combinado com *D. acidovorans* RZ4MS18, *D. acidovorans* RZ4MS18 e *A. brasilense* Ab-V5, *B. thuringiensis* RZ2MS9 e com *D. acidovorans* RZ4MS18 e no consórcio contendo todas as linhagens.



**Figura 6.** Índice de solubilização de fosfato aos 14 dias após inoculação seguido da diferença estatística obtida através do teste não paramétrico LSD. 1 = *A. brasilense* Ab-V5; 2 – *D. acidovorans* RZ4MS18; 3 – *Pantoea agglomerans* 33.1; 4 – *B. thuringiensis* RZ2MS9; 6 – Ab-V5+RZ4MS18; 7 – Ab-V5+33.1; 8 – Ab-V5+RZ2MS9; 9 – RZ4MS18+33.1; 10 – RZ4MS18+RZ2MS9; 11 – 33.1+RZ2MS9; 12 – 33.1+RZ4MS18+Ab-V5; 13 – RZ2MS9+Ab-V5+RZ4MS18; 14 – RZ2MS9+33.1+Ab-V5; 15 – RZ2MS9+33.1+RZ4MS18; 16 – Ab-V5+RZ4MS18+Ab-V5+RZ2MS9.

Apenas para as linhagens *D. acidovorans* RZ4MS18 e *P. agglomerans* 33.1 foi possível encontrar os genes codificadores das enzimas que fazem parte das vias de produção de AIA dependentes de triptofano. Para *A. brasilense* Ab-V5, foram encontrados oxirredutase (ORD), nitrila hidratase (NH), indol-3-pirúvico descarboxilase (IPDC) e aldeído desidrogenase (ALDH). Para a linhagem *B. thuringiensis* RZ2MS8, apenas aldeído desidrogenase (ALDH) e monoamina oxidase (MAO) foram encontradas. *D. acidovorans* RZ4MS18 possui completa a via IAN (indol-3-acetamida), logo, possui as enzimas triptofano-2-monooxigenase (TMO) e indol-3-acetamida hidrolase (IAH). Além dessas, pode-se encontrar as enzimas ORD, nitrilase, aminotransferase aromática (ATA), ALDH e MAO. A linhagem *P. agglomerans* 33.1 possui a via AIP (indol-3-pirúvico) completa, logo, possui as enzimas ATA, indol-3-pirúvico descarboxilase (IPDC) e ALDH. Não foram encontradas outras enzimas presentes nas vias dependentes de triptofano para produção de AIA em *P. agglomerans* 33.1 (figura 7).





**Figura 7.** Vias dependentes de triptofano para produção de AIA. ORD – oxirredutase; IAOxD – indol-3-acetaldoxima desidratase; TMO – triptofano-2-monooxigenase; IAH – indol-3-acetamida hidrolase; ATA – aminotransferase aromática; IPDC – indol-3-pirúvico descarboxilase; ALDH – aldeído desidrogenase; TDC – triptofano descarboxilase; MAO – monoamina oxidase; NH – nitrila hidratase; setas cheias indicam a presença da via, setas pontilhadas indicam a ausência.

Dos genes previamente selecionados nos artigos, destaca-se a presença dos genes *pho* e *pst* em todas as linhagens. O restante dos genes não foi observado em nenhum dos genomas estudados (Tabela 7). Além dos genomas estudados, muitos outros genes relacionados à solubilização de fosfato puderam ser encontrados, sendo 114 genes em *A. brasilense* Ab-V5, 118 genes em *B. thuringiensis* RZ2MS9, 134 genes em *D. acidovorans* RZ4MS18 e 171 genes em *P. agglomerans* 33.1. Além do maior número de genes presentes na única linhagem que apresentou capacidade de solubilizar fosfato, destaca-se a presença dos genes *phy* somente em *P. agglomerans* 33.1.

**Tabela 7.** Genes relacionados à solubilização de fosfato encontrados nos genomas bacterianos

Gene	Ab-V5	RZ2MS9	RZ4MS18	33.1
<i>gdc</i>	x	x	x	x
<i>pbo</i>	BDHPQRUY	AEHPRUY	ABEHRSTUWY	ABDHRSTUWY
<i>pby</i>	x	x	x	ABC
<i>pst</i>	ABCS	ABCS	ABCS	ABCS
<i>resD</i>	x	x	x	x
<i>resE</i>	x	x	x	x
<i>spo0B</i>	x	x	x	x
<i>spo0A</i>	x	x	x	x
<i>abrB</i>	x	x	x	x
<i>scoC</i>	x	x	x	x
<i>cpA</i>	x	x	x	x

Ab-B5 = *A. brasilense* Ab-V5; 33.1 = *P. agglomerans* 33.1; RZ2MS9 = *B. thuringiensis* RZ2MS9; RZ4MS18 = *Delftia acidovorans* RZ4MS18. As letras “x” indicam a ausência e sequencias de letras indicam a presença de mais de um gene, de acordo com o que foi encontrado.

Dentre os genes presentes em pelo menos um dos genomas bacterianos, observa-se que apenas três não são encontrados em *P. agglomerans* 33.1, sendo eles, *pboE*, *pboP* e *pboQ*. Para as outras linhagens, estão ausentes de 6 a 9 genes, novamente destacando a ausência dos genes *pby* nas linhagens que apresentaram resultado negativo no teste *in vitro* de solubilização de fosfato (Figura 8).

<i>phoA</i>	Orange	Green	Green	Green
<i>phoB</i>	Green	Orange	Green	Green
<i>phoD</i>	Green	Orange	Orange	Green
<i>phoE</i>	Orange	Green	Green	Orange
<i>phoH</i>	Green	Green	Green	Green
<i>phoP</i>	Green	Green	Orange	Orange
<i>phoQ</i>	Green	Orange	Orange	Orange
<i>phoR</i>	Green	Green	Green	Green
<i>phoS</i>	Orange	Orange	Green	Green
<i>phoT</i>	Orange	Orange	Green	Green
<i>phoU</i>	Green	Green	Green	Green
<i>phoW</i>	Orange	Orange	Green	Green
<i>phoY</i>	Green	Green	Green	Green
<i>phyA</i>	Orange	Orange	Orange	Green
<i>phyB</i>	Orange	Orange	Orange	Green
<i>phyC</i>	Orange	Orange	Orange	Green
<i>pstA</i>	Green	Green	Green	Green
<i>pstB</i>	Green	Green	Green	Green
<i>pstC</i>	Green	Green	Green	Green
<i>pstS</i>	Green	Green	Green	Green
	<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	<i>Bacillus thuringiensis</i> RZ2MS9	<i>Delftia acidovorans</i> RZ4MS18	<i>Pantoea agglomerans</i> 33.1

**Figura 8.** *Heatmap* presença e ausência de genes relacionados à solubilização de fosfato nos genomas bacterianos de *A. brasilense* Ab-V5, *B. thuringiensis* RZ2MS9, *D. acidovorans* RZ4MS18 e *P. agglomerans* 33.1.

### 3.4 Discussão

Estudos demonstram que a alta diversidade microbiana inoculante pode melhorar a promoção de crescimento mais efetivamente que linhagens únicas ou de baixa diversidade principalmente devido à facilitação de aditivos e sinergismo. Também é reportado que resultados mais consistentes podem ser obtidos por meio de inoculação de plantas com consórcios formados por dois ou mais microrganismos (Wang et al., 2022; Santoyo et al., 2021).

No presente estudo, observou-se que o melhor consórcio é formado por linhagens obtidas de locais distintos enquanto que os consórcios com todas as linhagens obtidas de solo de milho apresentaram resultados menos promissores. Apesar de não se encontrar pesquisas voltadas exclusivamente para esse propósito, grande parte dos estudos utilizam linhagens obtidas de diferentes locais (Mogal et al., 2020; Souza et al., 2015), porém, estudos apontam bom desempenho de comunidades sintéticas obtidas de um mesmo local (Armanhi et al., 2021; Saleem et al., 2021; Olanrewaju, Babalola, 2019; Armanhi et al., 2018).

Estudos em soja estão entre os principais no que se refere ao uso de consórcios obtidos de diferentes locais, através da combinação de *Bradyrhizobium* spp. e *Rhizobium* spp. com outras espécies bacterianas, como *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* spp. gerando aumento de produtividade e qualidade de grãos (Moretti et al., 2020). Resultados positivos das mistura de linhagens obtidas de diversas fontes também tem sido observadas em inoculantes comerciais em hortaliças, frutíferas, soja, cana-de-açúcar, milho, trigo, sorgo, cenoura e feijoeiro onde há aumento de produtividade, melhora nas características fenotípicas das plantas e mitigação de efeitos abióticos, como seca (Izidro, 2023; Pereira et al., 2023; Teixeira, 2023; Barbosa e Pereira, 2022; Bittencourt et al., 2022; Oliveira-Paiva et al., 2021, Bradáčová et al., 2019; Molina-Romero et al., 2017; Lopez-Cervantes e Thorpe, 2013).

Em geral, bactérias são isoladas de uma espécie de planta e após estudos de caracterização fisiológica *in vitro* que corroborem para a seleção daquelas com maior potencial para promoção de crescimento de plantas, espera-se que ocorra interação positiva com as mesmas plantas e em solo original. Em campo, é necessário que as BPCPs se adaptem ao solo e a cultura, porém, as características do solo e interação entre BPCP-planta podem afetar as funções e proliferação da bactéria (Kong et al., 2018). Apesar de ser utilizada a mesma cultura, nos experimentos não foi utilizado o mesmo tipo de solo, mas substrato comercial, o que pode ter influenciado na eficácia do consórcio bacteriano.

Conhecer a base molecular da interação planta-BPCPs ajuda a compreender fronteiras entre a percepção simbiótica, cooperativa e de patógenos presentes nas raízes das plantas (Droque et al., 2014). Comparando os genomas bacterianos observa-se que características de colonização e competição são as de maior expressão nos genomas estudados. Características de interesse agrônomo, como biofertilização, biorremediação, fitormônios e controle de estresse/biocontrole apresentam valores intermediários. Já estímulo de resposta imune da planta, também uma característica de interesse agrônomo, não é representativo nos genomas.

Com relação às características relacionadas à fitormônios, aquisição de ferro, assimilação de nitrogênio e solubilização de fosfato, as linhagens foram testadas *in vitro* quanto a existência de tais características. Em Batista et al. (2018) vemos que as quatro características podem ser observadas em experimento *in vitro* para *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9 (produção de ácido indol-acético, solubilização de fosfato, produção de sideróforos e fixação biológica de nitrogênio). Em Quecine et al. (2012), é demonstrada a capacidade *in vitro* de *Pantoea agglomerans* 33.1 em produzir ácido indol-acético, solubilizar fosfato e fixar nitrogênio. Em dados não publicados observamos sua capacidade em produzir sideróforos, sendo um destaque entre linhagens testadas. *Delftia acidovorans* RZ4MS18, testada previamente demonstrou capacidade de produzir ácido indol-acético, porém, nos experimentos realizados não realizou fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção de sideróforos, apesar das características aquisição de nitrogênio, ferro e solubilização de fosfato estarem presentes em seu genoma (dados não publicados). *Azospirillum brasilense* Ab-V5 também foi testado previamente, sendo capaz de produzir ácido indol-acético e fixar nitrogênio (dados não publicados). O mesmo se repete com relação aos genes presentes no genoma e características ausentes nos testes *in vitro*.

Observa-se a complementariedade entre genomas refletido nas funções relacionadas à promoção de crescimento de plantas ao se comparar os quatro genomas, *A. brasilense* Ab-V5, *B. thuringiensis* RZ2MS9, *Delftia acidovorans* RZ4MS18 e *P. agglomerans* 33.1. De 664 genes relacionados às características anteriormente avaliada *in vitro*, na avaliação *in silico* observa-se 104 genes em comum entre as linhagens e um total de 273 genes exclusivos (89 em *A. brasilense* Ab-V5, 54 em *B. thuringiensis* RZ2MS9, 50 em *Delftia acidovorans* RZ4MS18 e 80 em *P. agglomerans* 33.1). Outros 287 genes são compartilhados pelo menos entre duas linhagens. Percentualmente, 59% dos genes possuem algum grau de compartilhamento entre as linhagens (16% é encontrado em todas as linhagens e 43%

presentes em diversas combinações) e 41% dos genes são exclusivos. Em Subramaniam et al. (2020), o genoma de 16 linhagens de *Streptomyces* foram comparados, e observou-se que aproximadamente 50% dos genes são conservados entre as linhagens, apenas 10% são linhagem-específicos e o restante está presente em diversas combinações. Em 11 linhagens de *Pantoea agglomerans*, 70% dos genes são comuns entre todas as linhagens e 30% são exclusivos (Kumar et al., 2022). Também as bactérias promotoras de crescimento de plantas, *Kosakonia couanii* HypNH10 e *Rabnella variigena* HypNH18 apresentaram respectivamente 1% de genes comuns com outras 12 linhagens bacterianas próximas (identidade de 90%), 75% de genes únicos e 34% de genes acessórios e 27% de genes em comum com outras 10 linhagens (identidade de 90%), 54% de genes únicos e 19% genes acessórios (Raj et al., 2023).

As vias dependentes de triptofano para produção de AIA são bem conhecidas, diferente do que ocorre com os mecanismos de solubilização de sideróforos, onde se sabe que há um sistema de dois componentes combinado com repressores mas sem muito detalhamento de todo o processo (Rasul et al., 2021; Zang et al., 2019; Santos-Beneit, 2015). Com relação aos genes envolvidos na produção de AIA, assim como no ensaio in vitro todas as linhagens apresentaram genes relacionados à produção de AIA, mas apenas *D. acidovorans* RZ4MS18 e *P. agglomerans* 33.1 possuem vias dependentes de triptofano identificadas através da anotação de genes. Anotações em diferentes programas podem ser uma saída para obtenção de melhores resultados, podendo ser observadas vias de produção de AIA dependentes de triptofano nas outras linhagens. Interessantemente, ambas as linhagens que apresentaram via dependente de triptofano completa também foram as que mais produziram AIA no ensaio in vitro.

A limitação de fósforo disponível e os problemas que ocorrem após sua aplicação na agricultura são temas recorrentes, devido à importância do nutriente junto à sua disponibilidade limitada e dinâmica no solo (Alori et al., 2017). Fosfato pode ser solubilizado por ácidos orgânicos ou fitases secretadas pelas bactérias, sendo uma forma de tornar disponível o fosfato presente no solo, mas indisponível para uso pelas plantas (Dellagi et al., 2020; Alori et al., 2017). Com relação à solubilização de fosfato, apenas *P. agglomerans* 33.1 apresentou capacidade de solubilizar fosfato no ensaio in vitro. Todas as linhagens apresentaram genes relacionados à solubilização, mas é importante destacar a presença de genes *phy* na linhagem solubilizadora. O gene *phy* codifica enzimas fitase. Nos resultados in vitro, o efeito de *P. agglomerans* 33.1 é potencializado quando combinado com *D. acidovorans* RZ4MS18, *D. acidovorans* RZ4MS18 e *A. brasilense* Ab-V5, *B. thuringiensis* RZ2MS9 e *D. acidovorans* RZ4MS18 e no consórcio contendo todas as linhagens.

Sideróforos são moléculas de baixo peso molecular que possuem alta afinidade com ferro, sendo utilizado pelos microrganismos, mas também tornando esse elemento mais acessível para as plantas (Dellagi et al., 2020). Além de sua função na biofertilização, também atua no biocontrole por tornar ferro indisponível para outros microrganismos e na colonização de plantas por ser essencial na formação de biofilme. Diversos tipos de sideróforos podem ser produzidos por microrganismos, variando entre bactérias de acordo com o gram (Ahmed e Holmström, 2014).

A aquisição de nitrogênio facilitada por microrganismos é diversa, complexa e não totalmente caracterizada. Diversos genes são necessários para que seja realizada a fixação biológica de nitrogênio e testes in vitro diferentes do que foi utilizado para testar a capacidade das linhagens estão disponíveis para avaliar a redução de acetileno por enzimas e diluição de nitrogênio (Dellagi et al., 2020).

Dessa forma, podemos afirmar que as linhagens que apresentam genes relacionados às características estudadas, mas não apresentam capacidade quando testadas in vitro, pode-se atribuir à falta de algum gene importante para os processos ou que o teste utilizado não apresentou sensibilidade adequada ou o sistema regulatório dos mesmos.

Apesar das divergências entre a presença de genes e resultados *in vitro*, nos experimentos realizados em casa de vegetação observamos que a complementariedade de funções entre as linhagens foi favorável para aumento de massa seca de parte aérea e raiz, já que o consórcio apresentou resultados melhores que o controle e as linhagens inoculadas individualmente. A complementariedade de funções pode ser determinante na seleção de comunidades sintéticas para uso na agricultura e deve ser melhor investigado em trabalhos futuros.

## Referências

- Alori, E. T., Glick, B. R., Babalola, O. O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* 2017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
- Ahmed, E., Holmström, S. J. M. Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microb. Biotechnol.* 2017. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>
- Armada, E., Probanza, A., Roldán, A., Azcón, R. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. *Journal of Plant Physiology.* Mar, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.007>
- Armanhi, J. S. L., Souza, R. S. C., Biazotti, B. B., Yassitepe, J. E. C. T., Arruda, P. Modulating drought stress response of maize by a synthetic bacterial community. *Front. Microbiol.* 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.747541>
- Armanhi, J. S. L., Souza, R. S. C., Damasceno, N. B., Araújo, L. M., Imperial, J., Arruda, P. A community-based culture collection for targeting novel plant growth-promoting bacteria from the sugarcane microbiome. *Front. Plant Sci.* 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02191>
- Bakker, P. A. H. M., Pieterse, C. M. J., Jonge, R., Berendsen, R. L. The soil-borne legacy. *Cell.* 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.024>
- Barbosa, J. S. O., Pereira, P. S. S. Aplicação de solubilizador de fósforo em diferentes dosagens na cultura da cenoura. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) – Centro de Ensino Superior de São Gotardo, São Gotardo, 2022.
- Batista, B. D.; Lacava, P. T.; Ferrari, A.; Teixeira-silva, N. S.; Bonatelli, M. L.; Tsui, S.; Mondin, M.; Kitajima, E. W.; Pereira, J. O.; Azevedo, J. L. Screening of tropically derived, multi-trait plant growth-promoting rhizobacteria and evaluation of corn and soybean colonization ability. *Microbiological Research*, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.007>
- Bittencourt, C. D, Oliveira, M. M., NUNES, M. G. C., FERREIRA, E. P. B. F. Desempenho de inoculante solubilizador de fosfato no crescimento e produção do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). *Anais: Embrapa Arroz e Feijão.* 2022.
- Bonatelli, M. L., Castillo, G. A. A., Ferreira, A. P. O., Correr, F. H., Tamasco, G., Leomil, L., Romão-Dumaresq, A. S., Quecine, M. C. Mechanisms of *Pantoea agglomerans* 33.1 to promote plant growth and bioremediate. Não publicado. 2021.
- Bonatelli, M. L., Li, J., Dumaresq, A., Quecine, M. C., Settles, M. L. Complete Genome Sequence of *Bacillus* sp. Strain RZ2MS9, a Multitrait Plant Growth Promoter. *Microbiology Resource Announcements.* Jul. 2020. doi: <https://doi.org/10.1128/mra.00623-20>.
- Bradáčová, K., Sittinger, M., Tietz, K., Neuhausser, B., Kandeler, E., Berger, N., Ludewig, U., Neumann, G. Maize Inoculation with Microbial Consortia: Contrasting Effects on Rhizosphere Activities, Nutrient Acquisition and Early Growth in Different Soils. *Microorganisms.* 2019. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090329>

- Brick, J.M., Bostock, R.M. and Silverstone, S.E. (1991) Rapid In Situ Assay for Indole Acetic Acid Production by Bacteria Immobilized on Nitrocellulose Membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 535-538.
- Couillerot, O., Ramírez-Trujillo, A., Walker, V., Von Felten, A., Jansa, J., Maurhofer, M., Défago, G., Prigent-Combaret, C., Comte, G., Caballero-Mellado, J., Moëgne-Loccoz, Y. Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum*–*Pseudomonas*–*Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4249-z>
- Dellagi, A., Quillere, I., Hirel, B. Beneficial soil-borne bacteria and fungi: a promising way to improve plant nitrogen acquisition. *Journal of Experimental Botany*. 2020. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa112>.
- Drogue, B.; Sanguin, H.; Chamam, A.; Mozar, M.; Llauro, C.; Panaud, O.; Progent-Combaret, C.; Picault, N.; Wisniewski-Dyé, F. Plant root transcriptome profiling reveals a strain-dependent response during *Azospirillum*-rice cooperation. *Frontiers in Plant Science*. 2014. doi: 10.3389/fpls.2014.00607
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., Pedrosa, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant soil*, 2010. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
- Hungria, M.; Ribeiro, R. A., Nogueira, M. A. Draft Genome Sequences of *Azospirillum brasilense* Strains Ab-V5 and Ab-V6, Commercially Used in Inoculants for Grasses and Legumes in Brazil. *Microbiology Resource Announcements*. May. 2018. doi: <https://doi.org/10.1128/genomea.00393-18>
- Husen, E. (2013) Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities in vitro *Indones. J. Agric. Sci.*, 4, pp. 27-31. doi: 10.21082/ijas.v4n1.2003.p27-31.
- Izidro, M. Desempenho da cultura do trigo com aplicação de *Azospirillum brasilense* e BiomaPhos combinados a doses de adubação nitrogenada. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2023.
- Kong, Z., Hart, M., Liu, H. Paving the way from the lab to the field: using synthetic microbial consortia to produce high-quality crops. *Front. Plant Sci.*, Oct. 2018. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01467>
- Kumar, P., Rani, S., Dahiya, P., Kumar, A., Dang, A. S., Suneja, P. Whole genome analysis for plant growth promotion profiling of *Pantoea agglomerans* CPHN2, a non-rhizobial nodule endophyte. *Front. Microbiol.*, 2022. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.998821>
- Jha, C. K., Saraf, M. Evaluation of Multispecies Plant-Growth-Promoting Consortia for the Growth Promotion of *Jatropha curcas* L.. *J Plant Growth Regul*. 2012 <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9269-5>
- Lopez-Cervantes, J.; Thorpe, D.T. Microbial Composition Comprising Liquid Fertilizer and Processes for Agricultural Use. U.S. Patent 2013/0255338 A1, 3 October 2013.
- Maddock, D., Arnold, D., Denman, S., Brady, C. Description of a novel species of *Leclercia*, *Leclercia tamurae* sp. nov. and proposal of a novel genus *Silvania* gen. nov. containing two novel species *Silvania hatchlandensis* sp. nov. and *Silvania confinis* sp. nov. isolated from the rhizosphere of oak. *BMC Microbiology*. 2022. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02711-x>
- Mogal, S. C., Jha, S., Suthar, H., Parekh, V., Rajkumar, B. K. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) consortia for modulation of phytohormone and better nutrient acquisition. *Pla. Sci.*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.32439/ps.v3i4.20-29>

- Molina-Romero, D., Baez, A., Quintero-Hernández, V., Catañeda-Lucio, M., Fuentes-Ramírez, L. E., Bustillos-Cristales, M. R., Rodríguez-Andrade, O., Morales-García, Y. E., Munive, A., Muñoz-Rojas, J. Compatible bacterial mixture, tolerant to desiccation, improves maize plant growth. *Plos one*. 2017. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187913>
- Moretti, L. G., Cruscio, C. A. C., Bossolani, J. W., Momesso, L., Garcia, A., Kuramae, E. E., Hungria, M. Bacterial consortium and microbial metabolites increase grain quality and soybean yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00263-5>
- Olanrewaju, O. S., Babalola, O. O. Bacterial Consortium for Improved Maize (*Zea mays* L.) Production. *Microorganisms* 2019. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110519>
- Oliveira-Paiva, C. A., Cota, L. V., Marriel, I. E., Alves, V. M. C., Gomes, E. A., Sousa, S. M., Santos, F. C., Souza, F. F., Landau, E. C., Pinto Junior, A. S., Lana, U. G. P. Validação da recomendação para o uso do inoculante BiomaPhos® (*Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119) na cultura de soja. *Embrapa Milho e Sorgo*. 2021. Acesso: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1135679>
- Patz, S., Gautam, A., Becker, M., Ruppel, S., Rodríguez-Palenzuela, P., Huson, D., H. PLaBAse: a comprehensive web resource for analyzing the plant growth-promoting potential of plant associated bacter. *bioRxiv*. 2021. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.12.13.472471>
- Pereira, I. S., Santos, C. R., Gandara, L. C., Santos, W. S., Oliveira, F. S., Santos, H. O., Neiva, I. P., Noce, M. A., Santos, E. M. S. Bioinoculantes em sistema integrado de sorgo e campim paiguás no semiárido: evidências in silico e fenotípicas. *Natural Resources*. 2023.
- Quecine, M. C., Araújo, W. L., Rosetto, P. B., Ferreira, A., Tsui, S., Lacava, P. T., Mondim, M., Azevedo, J. L. Pizzirani-Kleiner, A. A Sugarcane growth promotion by 26 endophytic bacterium *Pantoea agglomerans* 33.1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012. doi: 10.1128/AEM.00836-12
- Raj, Y., Kumar, A., Kumari, S., Kumar, R., Kumar, R. Comparative genomics and physiological investigations supported multifaceted plant growth-promoting activities in two *Hypericum perforatum* L. – Associated plant growth-promotin rhizobacteria for microbe-assisted cultivation. *ASM*. 2023.
- Rasul, M., Yasmim, S., Yahya, M., Breitkreuz, C., Tarkka, M., Reitz, T. The wheat growth-promoting traits of *Ochrobactrum* and *Pantoea* species, responsible for solubilization of different P sources, are ensured by genes encoding enzymes of multiple P-releasing pathways. *Microbiological Research*. 2021.
- Saleem, M., Nawaz, F., Hussain, M. B., Ikram, R. M. Comparative effects of individual and consortia plant growth promoting bacteria on physiological and enzymatic mechanisms to confer drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2021. Doi: <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00620-y>
- Santos-Beneit, F. The Pho regulon: a huge regulatory network in bacteria. *Front. Microbiol.* 2015. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00402>
- Santoyo, G., Guzmán-Guzmán, P., Parra-Cota, F. I., Santos-Villalobos, S., Orozco-Mosqueda, M. C., Glick, B. R. Plant growth stimulation by microbial consortia. *Agronomy*. 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>
- Silva Filho, G. N.; Vidor, C. Solubilização de fosfato por microrganismos na presença de fontes de carbono. *Rev. Bras. Cienc. Solo* 24, 311-319. 2000.
- Souza, R., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet Mol Biol*. 2015. doi: 10.1590/S1415-475738420150053
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., Remans, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*. 2007. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>



- Subramaniam, G., Thakur, V., Saxena, R. K., Vadlamudi, S., Purohit, S., Kumar, V., Rathore, A., Chitikineni, A., Varshney, R. L. Complete genome sequence of sixteen plant growth promoting *Streptomyces* strains. *Sci Rep*, 2020. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67153-9>
- Teixeira, J. P. C. M. N. Bioestimulantes no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar à campo. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2023.
- Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G, Sa, T., Singh, B. K. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nat Rev Microbiol*. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
- Vanini, C., Domingo, G., Fiorilli, V., Seco, D. G., Novero, M., Marsoni, M., Wisniewski-Dye, F., Bracale, M., Moulin, L., Bonfante, P. Proteomic analysis reveals how pairing of a mycorrhizal fungus with plant growth promoting bacteria modulates growth and defense in wheat. *Plant, Cell & Environment*. 2021. doi: <https://doi.org/10.1111/pce.14039>
- Verma, S. C., Ladha, J. K., Tripathi, A. K. (2001) Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J. Biotechnol.*, 91, pp. 127-141, doi:10.1016/S0168-1656(01)00333-9.
- Wang, Y., Liu, H., Shen, Z., Miao, Y., Wang, J., Jiang, X., Shen, Q., Li, R. Richness and antagonistic effects co-affect plant growth promotion by synthetic microbial consortia. *Applied Soil Ecology*. 2022 <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104300>
- Yassue, R. M.; Carvalho, H. F.; Gevartosky, R.; Sabadin, F.; Souza, P. H.; Bonatelli, M. L.; Azevedo, J. L.; Quecine, M. Q.; Fritsche-Neto, R. On the genetic architecture in a public tropical maize panel of the symbiosis between corn and plant growth-promoting bacteria aiming to improve plant resilience. *Molecular breeding*. 2021. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11032-021-01257-6>.
- Zang, P., Jin, T., Sahu, S. K., Xu, J., Shi, Q., Liu, H., Wang, Y. The distribution of tryptophan-dependent indole-3-acetic acid synthesis pathways in bacteria unraveled by large-scale genomic analysis. *Molecules*. 2019. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24071411>

## APÊNDICES

### Apêndice A.

Espécies utilizadas na construção dos dendogramas e números de acesso.

Espécie	Acesso RDP	Outros acessos
<i>Arthrobacter agilis</i> 37R	S000323579	AJ577725
<i>Arthrobacter agilis</i> DSM 20550	S000011221	X80748
<i>Arthrobacter agilis</i> VincaOsa	S000000329	AF511518
<i>Arthrobacter alkaliphilus</i> LC6	S000768326	AB248527
<i>Arthrobacter castelli</i> LMG 22283	S000544085	AJ639826
<i>Arthrobacter citreus</i> DSM 20133	S000009503	X80737
<i>Arthrobacter citreus</i> OS-21.b	S000652888	AM237346
<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> B6A	S001095734	EU360469
<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> DSM 20117	S000004639	X80738
<i>Arthrobacter davidanieli</i> RSX II	S000428879	AF099202
<i>Arthrobacter dextranolyticus</i> T6	S000415054	AB117515
<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> Ep1	S000391701	AF329834
<i>Arthrobacter flavus</i> JCM 11496	S000841696	AB299278
<i>Arthrobacter gandavensis</i> OS-44.c2	S000652899	AM237357
<i>Arthrobacter gandavensis</i> R5812	S000251334	AJ316140
<i>Arthrobacter gandavensis</i> R5814	S000251523	AJ491107
<i>Arthrobacter gandavensis</i> R5815	S000251524	AJ491108
<i>Arthrobacter globiformis</i> DSM 20124	S000006170	X80736
<i>Arthrobacter globiformis</i> JCM 1332	S000148275	AB089841
<i>Arthrobacter globiformis</i> TUT1005	S000385748	AB098573
<i>Arthrobacter halodurans</i> JSM 078085	S001097493	EU583729
<i>Arthrobacter humicola</i> KV-653	S000749604	AB279890
<i>Arthrobacter koreensis</i> CA15-8	S000396184	AY116496
<i>Arthrobacter koreensis</i> CA15-9	S000396185	AY116497
<i>Arthrobacter luteolus</i> CF-25	S000022081	AJ243422
<i>Arthrobacter luteolus</i> LNR3	S000690971	DQ486130
<i>Arthrobacter methylotrophus</i> DSM 14008	S000389775	AF235090
<i>Arthrobacter monumenti</i> LMG 19502	S000570153	AJ315070
<i>Arthrobacter oryzae</i> 01-0266	S000979814	EU086778
<i>Arthrobacter oryzae</i> KV-651	S000749603	AB279889
<i>Arthrobacter parietis</i> LMG 22281	S000544089	AJ639830
<i>Arthrobacter pascens</i> 3W	S000140729	AJ576068
<i>Arthrobacter pascens</i> DSM 20545	S000000969	X80740
<i>Arthrobacter pigmenti</i> LMG 22284	S000544086	AJ639827
<i>Arthrobacter pityocampae</i> Tp2	S001155281	EU855749

---

<i>Arthrobacter psychrolactophilus</i>	S000387891	AF134179
<i>Arthrobacter psychrolactophilus</i> D10	S000387892	AF134180
<i>Arthrobacter rhombi</i> F58	S000005444	Y15884
<i>Arthrobacter rhombi</i> F98	S000013841	Y15885
<i>Arthrobacter rhombi</i> S189	S000261331	AY509239
<i>Arthrobacter roseus</i> CMS90	S000131048	AJ278870
<i>Arthrobacter roseus</i> CMS92	S000129231	AJ278869
<i>Arthrobacter russicus</i> GTC863	S000334610	AB071950
<i>Arthrobacter subterraneus</i> CH7	S000559147	DQ097525
<i>Arthrobacter tecti</i> LMG 22282	S000544088	AJ639829
<i>Arthrobacter tecti</i> LMG 22285	S000570457	AJ639828
<i>Arthrobacter tumbae</i> LMG 19501	S000570152	AJ315069
<i>Arthrobacter woluwensis</i> 1551	S000012840	X93353
<i>Arthrobacter woluwensis</i> CBU05/5295	S000636354	DQ317590
<i>Arthrobacter woluwensis</i>	S000396142	AY112986
<i>Bacillus aeolius</i> 4-1	S000108528	AJ504797
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CR-11	S000331907	AY605932
<i>Bacillus anthracis</i> Sterne	S000008663	AF290552
<i>Bacillus aquimaris</i> GSP18	S000358857	AY505499
<i>Bacillus benzoevorans</i> YEO5	S000003462	Y14693
<i>Bacillus carboniphilus</i> JCM9731	S000007628	AB021182
<i>Bacillus cereus</i>	S000001293	AF206326
<i>Bacillus cereus</i> 9620	S000388275	AF155952
<i>Bacillus cereus</i> BGSC 6A5	S000356874	AY224381
<i>Bacillus cereus</i> Tim-r01	S000009089	AB050630
<i>Bacillus coagulans</i> SIM-7	S000005947	AF346895
<i>Bacillus cobnii</i> ML-A10	S000388024	AF140014
<i>Bacillus encimensis</i> ATCC 14574	S000016369	X77790
<i>Bacillus hackensackii</i>	S000397962	AY148429
<i>Bacillus halmapalus</i> DSM 8723	S000001559	X76447
<i>Bacillus horikoshii</i> DSM 8719	S000381271	X76443
<i>Bacillus koreensis</i> BR030	S000373337	AY667496
<i>Bacillus lentus</i>	S000000169	AB021189
<i>Bacillus licheniformis</i>	S000002216	AF516177
<i>Bacillus licheniformis</i> C16	S000345156	AF397062
<i>Bacillus licheniformis</i> FO-028	S000389748	AF234848
<i>Bacillus licheniformis</i> FO-054	S000389757	AF234857
<i>Bacillus mannanilyticus</i> AM-001	S000383283	AB043864
<i>Bacillus marisflavi</i> MSU1910	S000372145	AY647294
<i>Bacillus megaterium</i> C1	S000106186	AJ491841
<i>Bacillus megaterium</i> MO26	S000330849	AY553114

---

<i>Bacillus megaterium</i> MO29	S000330851	AY553116
<i>Bacillus methanolicus</i> C1	S000003875	X64465
<i>Bacillus mojavensis</i> IFO15718	S000006847	AB021191
<i>Bacillus mycoides</i> 6462	S000388279	AF155956
<i>Bacillus pumilus</i> EI-24-10	S000085190	AJ494727
<i>Bacillus safensis</i> SAFN-027	S000325212	AY167884
<i>Bacillus seobaeanensis</i> BH724	S000373336	AY667495
<i>Bacillus smithii</i> DSM 4216	S000001560	Z26935
<i>Bacillus sonorensis</i> NRRL B-23154	S000390972	AF302118
<i>Bacillus sonorensis</i> R-19056	S000352481	AJ586363
<i>Bacillus sporothermodurans</i> LMG 19620	S000016514	AF329476
<i>Bacillus subtilis</i>	S000009793	AB065370
<i>Bacillus subtilis</i> A22	S000397171	AY134870
<i>Bacillus subtilis</i> Lactipan	S000001363	AJ277905
<i>Bacillus subtilis</i> MO4	S000330832	AY553097
<i>Bacillus subtilis</i> PY79	S000388058	AF142577
<i>Bacillus thuringiensis</i> WS 261	S000000601	Z84584
<i>Bacillus thermoamylovorans</i> R-19047	S000352479	AJ586361
<i>Bacillus thuringiensis</i> WS 2623	S000000977	Y18473
<i>Embleya scabrispora</i> KM-4927	S000469290	AB030585
<i>Micrococcus lylae</i> DSM 20315	S000013460	X80750
<i>Siphonobacter aquaeclarae</i> HPG59	S002966769	JQ291601
<i>Siphonobacter aquaeclarae</i> P2	S001188350	FJ177421
<i>Siphonobacter curvatus</i> HR-U	-	MF682433.1
<i>Siphonobacter intestinalis</i> 63MJ-2	-	NR_165683.1
<i>Siphonobacter intestinalis</i> SORGH AS393	-	ON973216.1
<i>Siphonobacter intestinalis</i> SORGH AS565	-	ON973219.1
<i>Streptomyces albidoflavus</i> DSM 40130T	S000002402	Z76681
<i>Streptomyces albidoflavus</i> DSM 40347T	S000001636	Z76682
<i>Streptomyces albidoflavus</i> DSM 40792	S000000128	Z76677
<i>Streptomyces albiflaviniger</i> NRRL B 1356	S000003178	AJ391812
<i>Streptomyces arenae</i> ISP 5293	S000000827	AJ399485
<i>Streptomyces auratus</i> NRRL 8097	S000002409	AJ391816
<i>Streptomyces bellus</i> ISP 5185	S000003566	AJ399476
<i>Streptomyces bicolor</i> ISP 5140	S000003964	AJ276569
<i>Streptomyces caelestis</i> ISP 5084	S000002034	AJ399467
<i>Streptomyces cattleya</i> JCM 4925	S000000349	AB045871
<i>Streptomyces chartreusis</i> ISP 5085	S000002035	AJ399468
<i>Streptomyces coeruleus</i> ISP 5146	S000003965	AJ399462
<i>Streptomyces fradiae</i> JCM 4154	S000003643	AF369704
<i>Streptomyces galilaeus</i> JCM 4757	S000001869	AB045878

<i>Streptomyces griseochromogenes</i> ISP 5499	S000003968	AJ399491
<i>Streptomyces griseus</i> 2247	S000001103	AB030567
<i>Streptomyces griseus</i> ATCC10137	S000000643	Y15501
<i>Streptomyces hygroscopicus</i> NRRL B-1477	S000002037	AJ391819
<i>Streptomyces iakyrus</i> ISP 5482	S000003569	AJ399489
<i>Streptomyces jumonjinensis</i> JCM 4947	S000004206	AB045863
<i>Streptomyces kasugaensis</i> M338-M1	S000001861	AB024441
<i>Streptomyces lavendulae</i> IFO 12341	S000002412	D85110
<i>Streptomyces lavendulae</i> IFO 12343	S000001643	D85111
<i>Streptomyces lavendulae</i> IFO 14028	S000001020	D85114
<i>Streptomyces lavendulae</i> IFO 3125	S000002411	D85106
<i>Streptomyces lividans</i> TK21	S000002404	X86354
<i>Streptomyces melanosporofaciens</i> NBRC 13061	S000652007	AB184283
<i>Streptomyces microflavus</i> JCM 4711	S000002976	AB045861
<i>Streptomyces mirabilis</i> ATCC27447	S000002270	AF112180
<i>Streptomyces pallidus</i> ISP 5531	S000003970	AJ399492
<i>Streptomyces phaeoigriseichromatogenes</i> NRRL 2834	S000002791	AJ391813
<i>Streptomyces purpurascens</i> ISP 5310	S000002785	AJ399486
<i>Streptomyces somaliensis</i> DSM 40738	S000001688	AJ007403
<i>Streptomyces somaliensis</i> DSM 40760	S000001687	AJ007399
<i>Streptomyces somaliensis</i> M29	S000004008	AJ007401
<i>Streptomyces sparsogenes</i> NRRL 2940	S000002792	AJ391817
<i>Streptomyces steffisburgensis</i> JCM 4833	S000003786	AB045889
<i>Streptomyces tauricus</i> JCM 4837	S000001870	AB045879
<i>Streptomyces thermocoprohilus</i> B19	S000003179	AJ007402
<i>Streptomyces thermovulgaris</i> DSM 40579	S000002413	Z68098
<i>Streptomyces tumescens</i> Cu-3-1	S000003613	AF346481
<i>Streptomyces tumescens</i> Km-1-1	S000000653	AF346482
<i>Streptomyces tumescens</i> Km-2-1	S000000466	AF346483
<i>Streptomyces venezuelae</i> JCM 4526	S000002613	AB045890
<i>Streptomyces violarius</i> ISP 5205	S000003980	AJ399477
<i>Streptomyces virginiae</i> IFO 12827	S000002044	D85123
<i>Streptomyces viridochromogenes</i> JCM 5013	S000012607	AB045858
<i>Streptomyces viridochromogenes</i> NBRC 12337	S000651798	AB184074
<i>Streptomyces viridochromogenes</i> NBRC 12338	S000651799	AB184075
<i>Streptomyces viridochromogenes</i> NBRC 12339	S000651800	AB184076

## Apêndice B.

Heatmap da presença e ausência dos genes avaliados nas linhagens *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9, *Delftia acidovorans* RZ4MS18 e *Pantoea agglomerans* 33.1.

Aquisição de Fe por sideróforos	AbV5	33.1	RZ2MS9	RZ4MS18
acrA   lir   mtcA   mexA   adeI   smeD   mtrC   cmeA->PGPT0003275				
acrB   acrE   mexB   adeJ   smeE   mtrD   cmeB->PGPT0003280				
acrD   yffA->PGPT0003285				
acrR   smeT->PGPT0003255				
alcR->PGPT0031030				
asbA->PGPT0003545				
asbB->PGPT0003550				
asbC->PGPT0003555				
asbE->PGPT0003565				
asbF->PGPT0003570				
bauR->PGPT0003120				
bibB->PGPT0031155				
blt->PGPT0003185				
bmr->PGPT0003190				
cotB3->PGPT0003075				
ddc   dfoJ   desA->PGPT0013725				
dhbF->PGPT0003165				
entA   vibA   viuA   vabA   angA   dhbA   cbsA   aebA->PGPT0003210				
entB   vibB   viuB   vabB   angB   dhbB   basF   cbsB   aebB->PGPT0003215				
entC   vibC   viuB   angC   vabC   dhbC   basJ   cbsE   aebC->PGPT0003220				
entD   basI   angD   cbsD   cbsE   aebD->PGPT0003225				
entE   psmE   dhbE   basE   angE   aebE->PGPT0003270				
entF   aebF->PGPT0003230				
entS   ybdA   cbsS->PGPT0003290				
eqbJ->PGPT0031295				
fepA   pfeA   iroN   pirA->PGPT0003415				
fepB   cbuB->PGPT0003310				
fepC   yusV   cbuC->PGPT0003295				
fepD   febD   cbuD->PGPT0003300				
fepG   cbuG->PGPT0003305				
fes   cbsF   cbsH->PGPT0003235				
fhuB->PGPT0003320				
fhuC->PGPT0003325				
fhuD->PGPT0003330				
fhuF->PGPT0003315				
fyuA   psn->PGPT0003495				
hemF->PGPT0003205				
hemN   hemZ->PGPT0003200				
iroE->PGPT0003410				
irp8   ybtX->PGPT0003530				
macA   pvdR->PGPT0027919				
macB   ybjZ   pvdT->PGPT0027920				

mbaO->PGPT0031720				
mbtH nocI->PGPT0003370				
mdtA->PGPT0003585				
mdtB->PGPT0003590				
mdtC->PGPT0003595				
mta ywnD->PGPT0003175				
pchB pmsB->PGPT0003065				
pchC->PGPT0003085				
pchR->PGPT0003110				
pfeE->PGPT0003240				
putative_cbrC->PGPT0003115				
pvdA->PGPT0003390				
pvdE->PGPT0003400				
pvdQ->PGPT0003395				
pvdS_like->PGPT0031080				
rhbC->PGPT0003403				
rhbF->PGPT0003407				
speC speF ODC1->PGPT0007765				
tolC->PGPT0003600				
ydfK yqgA->PGPT0003195				
ymfE->PGPT0003580				
ymfI fabG efpI->PGPT0003180				
Aquisição de N				
aapA->PGPT0000602				
aauR->PGPT0000800				
aauS->PGPT0000790				
ABC_SN_A ytlC->PGPT0001140				
ABC_SN_P->PGPT0001145				
acoR->PGPT0001030				
allC->PGPT0000875				
allR->PGPT0000860				
amtB ybaG amt->PGPT0000840				
aspQ asnA asnB->PGPT0000700				
atzF->PGPT0001010				
dnr->PGPT0001075				
draG->PGPT0001065				
draT->PGPT0001060				
eutB->PGPT0000605				
eutC->PGPT0000610				
exoR->PGPT0000855				
exoS chvG->PGPT0000850				
fdnG->PGPT0001100				
fixA etfB->PGPT0001035				
fixB etfA->PGPT0001040				
fixC->PGPT0001045				
fixJ->PGPT0000145				

fixL->PGPT0000140				
fixN ccoN->PGPT0001055				
fixO ccoO->PGPT0000152				
fixP ccoP->PGPT0000153				
fmdA amiE amiF->PGPT0000620				
fnr->PGPT0000515				
frdA->PGPT0001115				
gdhA->PGPT0000690				
glnA->PGPT0000645				
glnB glnY->PGPT0000650				
glnD->PGPT0000660				
glnE->PGPT0000655				
glnH->PGPT0000665				
glnK glnZ->PGPT0000675				
glnP->PGPT0000725				
glnQ->PGPT0000730				
glnR->PGPT0001015				
glnT->PGPT0000745				
gltB->PGPT0000635				
gltD->PGPT0000640				
gltI aatJ->PGPT0000750				
gltJ aatQ->PGPT0000760				
gltK aatM->PGPT0000755				
gltL aatP->PGPT0000765				
gltP gltT->PGPT0000805				
gltS->PGPT0000810				
gluB->PGPT0000770				
gluC->PGPT0000775				
gluD->PGPT0000780				
hcp->PGPT0000630				
hpxA->PGPT0000895				
hpxB->PGPT0000885				
hupC hyaC->PGPT0000220				
hupL hyaB hybC->PGPT0000210				
hupS hyaA hybO->PGPT0000215				
hupT hoxJ->PGPT0000275				
hupV hupK->PGPT0000230				
hyfB->PGPT0000160				
hyfC->PGPT0000165				
hyfF->PGPT0000180				
hyfG->PGPT0000185				
hyfI->PGPT0000195				
hypA hybF->PGPT0000240				
hypB hupJ->PGPT0000245				
hypC hupF->PGPT0000250				
hypD->PGPT0000255				



hypE->PGPT0000260				
hypF->PGPT0000265				
modE->PGPT0000520				
napA->PGPT0000310				
napB->PGPT0000315				
napC->PGPT0000320				
napD->PGPT0000325				
napE->PGPT0000330				
napF->PGPT0000335				
narG   narZ   nxrA->PGPT0000285				
narH   narY   nxrB->PGPT0000500				
narI   narV->PGPT0000505				
narJ   narW->PGPT0000510				
narK   nrtP   nrt   narU->PGPT0000300				
narL->PGPT0000550				
narP->PGPT0000555				
narQ->PGPT0000560				
narX->PGPT0000305				
nasA   nasC   narB->PGPT0000390				
nasD   nrtC->PGPT0000575				
nasE   nrtB   cynB->PGPT0000580				
nasF   nrtA   cynA->PGPT0000585				
nfrA1   ywcG->PGPT0000290				
nfrA2   ycnD->PGPT0000295				
nifA   anfA   vnfA->PGPT0000001				
nifB->PGPT0000005				
nifD   anfD->PGPT0000010				
nifE->PGPT0000015				
nifH   anfH->PGPT0000025				
nifK   anfK->PGPT0000045				
nifM   ppiC->PGPT0000050				
nifN   vnfN->PGPT0000055				
nifQ->PGPT0000060				
nifS   iscS->PGPT0000065				
nifT   fixU->PGPT0000070				
nifU   iscU->PGPT0000075				
nifV->PGPT0000080				
nifW->PGPT0000085				
nifZ->PGPT0000095				
nirA->PGPT0000445				
nirB->PGPT0000450				
nirC->PGPT0000565				
nirD->PGPT0000455				
nirK->PGPT0000460				
nitA   nitB   nitR   nit1->PGPT0000835				
nnrR->PGPT0000485				

norB->PGPT0000350				
norC->PGPT0000355				
norD->PGPT0000360				
norQ->PGPT0000370				
norR->PGPT0000375				
nosD->PGPT0000410				
nosF->PGPT0000415				
nosL->PGPT0000420				
nosR->PGPT0000425				
nosX   apbE   yojL   fmnB->PGPT0000430				
nosY->PGPT0000435				
nosZ->PGPT0000440				
nreC->PGPT0000530				
nrfE->PGPT0000484				
nrfF->PGPT0000486				
ntrA   rpoN->PGPT0000795				
ntrB   glnL->PGPT0000680				
ntrC   glnG->PGPT0000685				
ntrX->PGPT0001020				
ntrY->PGPT0001025				
peb1A   glnH->PGPT0000670				
peb1B   glnP   glnM->PGPT0000705				
peb1C   glnQ->PGPT0000710				
ptsN->PGPT0000135				
regA   regR   actR->PGPT0000540				
regB   regS   actS->PGPT0000545				
TC_AAT   yifK->PGPT0000815				
tgnB->PGPT0000910				
tgnR->PGPT0000900				
uca   dur   urd->PGPT0001005				
ureA->PGPT0000955				
ureB->PGPT0000960				
ureC->PGPT0000965				
ureD->PGPT0000970				
ureF->PGPT0000980				
ureG->PGPT0000985				
ureI->PGPT0000990				
ureJ->PGPT0000995				
urtA->PGPT0000925				
urtB->PGPT0000930				
urtC->PGPT0000935				
urtD->PGPT0000940				
urtE->PGPT0000945				
ycbA   glnK->PGPT0000735				
ycbB   glnL->PGPT0000740				
yfdC->PGPT0000590				

Solubilização de P				
2_ketogluconate_reductase->PGPT0001315				
aarC   cat1->PGPT0001545				
accA->PGPT0001695				
accB   bccP->PGPT0001700				
accC->PGPT0001705				
accD->PGPT0001710				
acdAB->PGPT0002255				
aceA->PGPT0001550				
aceB   glcB->PGPT0001445				
aceE->PGPT0001385				
aceF   pdhC->PGPT0001390				
aceK->PGPT0001475				
ackA->PGPT0001360				
acnA->PGPT0001465				
acnB->PGPT0001470				
acnD->PGPT0001515				
acs->PGPT0002265				
actA->PGPT0001885				
actP->PGPT0001400				
acuI   yhdH->PGPT0002275				
acyP   yccX->PGPT0001372				
argD   pqqI->PGPT0014253				
agpP   agp->PGPT0002585				
alaA->PGPT0001880				
aldA->PGPT0001725				
appA->PGPT0002560				
argD   pqqI->PGPT0014253				
bcd->PGPT0002285				
buk->PGPT0001815				
cah->PGPT0002420				
citA   tcuC->PGPT0001505				
citS->PGPT0001490				
citT->PGPT0001495				
CS   gltA->PGPT0001455				
cuyA->PGPT0002000				
cynT   can->PGPT0002415				
cysD->PGPT0002405				
cysN->PGPT0002400				
cysNC->PGPT0002395				
dapA   mosA->PGPT0002080				
dat->PGPT0001915				
dctA->PGPT0001450				
dgaF->PGPT0002065				
dgoT->PGPT0002190				
dkgA->PGPT0001320				

dkgB->PGPT0001325				
dld->PGPT0001890				
dml->PGPT0002100				
dsdA->PGPT0001970				
EC_1_1_99_3A gnd->PGPT0001300				
EC_1_1_99_3G gadh3->PGPT0001305				
eda->PGPT0002060				
faaH->PGPT0001615				
fadB->PGPT0001865				
fadJ->PGPT0001870				
fahA->PGPT0001610				
fdhA->PGPT0002115				
frc yfdW->PGPT0002130				
fmdA amiE amiF->PGPT0000620				
frc yfdW->PGPT0002130				
frdA->PGPT0001115				
frmB fghA->PGPT0002120				
fumA fumB->PGPT0001635				
fumC->PGPT0001650				
fumE->PGPT0001660				
fwdA fmdA->PGPT0002135				
fwdC fmdC->PGPT0002145				
gabD->PGPT0001580				
gal->PGPT0002205				
GAMMACA_like->PGPT0002425				
garL->PGPT0002090				
ghrB->PGPT0001310				
gloB gloC->PGPT0001770				
gnl->PGPT0001285				
gntT->PGPT0001330				
gntU->PGPT0001335				
gph->PGPT0001730				
hpaF->PGPT0001630				
hpaI hpcH->PGPT0001575				
icd->PGPT0001170				
ilvA tdcB->PGPT0001960				
ilvD->PGPT0001875				
JEN_Homologous->PGPT0001795				
kgtP->PGPT0001525				
korA oorA oforA->PGPT0001175				
korB oorB oforB->PGPT0001180				
lctO->PGPT0001895				
lctP->PGPT0001800				
ldhA->PGPT0001755				
ldh->PGPT0001760				
lgoT->PGPT0002195				

ligK   galC->PGPT0002085				
lldD->PGPT0001765				
lldP   lctP->PGPT0001805				
lpd   pdhD->PGPT0001380				
lra6->PGPT0001745				
maeA   sfcA   ywkA->PGPT0001350				
maeB->PGPT0001685				
maeN->PGPT0001690				
mccB->PGPT0001985				
mdcF->PGPT0001720				
mdcR->PGPT0001715				
mdh->PGPT0001435				
menI   ydiI   ydiL   ydiI   ybdB->PGPT0001845				
metC->PGPT0001995				
mgsA->PGPT0001780				
mmdA->PGPT0002300				
mmsA   iolA->PGPT0002295				
mgo->PGPT0001440				
nagK->PGPT0001620				
nagL->PGPT0001896				
napA->PGPT0000310				
napB->PGPT0000315				
narG   narZ   nxrA->PGPT0000285				
narH   narY   nxrB->PGPT0000500				
narI   narV->PGPT0000505				
nasA   nasC   narB->PGPT0000390				
oxc->PGPT0002125				
paaF   echA->PGPT0001860				
patB   malY->PGPT0001990				
pccA->PGPT0001711				
pccB->PGPT0001712				
pckA->PGPT0001405				
pfID   ybiW   tdcE->PGPT0001950				
phnC->PGPT0002520				
phnD->PGPT0002525				
phnE->PGPT0002530				
phnF->PGPT0002515				
phnG->PGPT0002435				
phnH->PGPT0002440				
phnI->PGPT0002445				
phnJ->PGPT0002450				
phnK->PGPT0002455				
phnL->PGPT0002460				
phnO->PGPT0002475				
phnP->PGPT0002480				
phnW->PGPT0002485				

phnX->PGPT0002490				
phoA->PGPT0002570				
phoB->PGPT0002660				
phoD->PGPT0002575				
phoE->PGPT0002635				
phoE->PGPT0002635				
phoH->PGPT0002700				
phoR->PGPT0002705				
phoU   phoY->PGPT0002630				
phy   phyA   phyB   phyC->PGPT0002580				
pitA   pit->PGPT0002645				
poxB->PGPT0001371				
poxL->PGPT0007160				
ppa->PGPT0002600				
ppdK->PGPT0002040				
ppk->PGPT0002685				
ppk2->PGPT0002690				
pps   ppsA->PGPT0002035				
ppx   ppx_gppA->PGPT0002595				
pqqA->PGPT0001245				
pqqB   pqqG->PGPT0001250				
pqqC->PGPT0001255				
pqqD->PGPT0001260				
pqqE->PGPT0001265				
pqqF->PGPT0001270				
pqqL   yddC->PGPT0001280				
prkB   cbbP->PGPT0001735				
prpB->PGPT0001555				
prpC->PGPT0001480				
prpE->PGPT0002270				
prpF->PGPT0001520				
pstA->PGPT0002610				
pstB   phoT->PGPT0002615				
pstC   phoW->PGPT0002620				
pstS   phoS->PGPT0002625				
pta->PGPT0001365				
ptb->PGPT0001810				
ptsI->PGPT0002025				
ptsP->PGPT0002030				
pyc->PGPT0001420				
pyk->PGPT0002020				
rbcL   cbbL->PGPT0001150				
regX3->PGPT0002675				
sad   yneI->PGPT0001585				
sat   met3->PGPT0002410				
sdaA   sdaB   tdcG->PGPT0001975				

sdhA   frdA->PGPT0001605				
sdhB   frdB->PGPT0001600				
sdhC   frdC->PGPT0001595				
sdhD   frdD->PGPT0001590				
sds->PGPT0001965				
sgaA->PGPT0001920				
sseA->PGPT0002045				
soeA->PGPT0002380				
soeB->PGPT0002385				
soeC->PGPT0002390				
sorA->PGPT0002365				
soxY->PGPT0002355				
sseA->PGPT0002045				
stp1   pppA->PGPT0002605				
sucA->PGPT0001530				
sucB->PGPT0001535				
sucD->PGPT0001540				
TC_CITMHS   CitMHS_family   citN->PGPT0001500				
TC_DASS   yfIS->PGPT0013960				
TC_GNTP->PGPT0001340				
TC_PIT->PGPT0002655				
tesA->PGPT0001840				
tesB->PGPT0001835				
tpav   bioA   yhxA->PGPT0001925				
ttuB->PGPT0002325				
ttuC   dmlA->PGPT0001905				
ybgC->PGPT0001850				
ycgM->PGPT0001625				
yciA->PGPT0001830				
yciG   ymdF   gsiB->PGPT0002680				
yjbB->PGPT0002650				
yjhH   yagE->PGPT0002095				
yxiE->PGPT0002681				
Produção de AIA				
aldA->PGPT0001725				
aldB->PGPT0007176				
aldH   dhaS->PGPT0006875				
aspC->PGPT0020115				
auxin_symporter->PGPT0007208				
bam   iaaH   aux2->PGPT0007200				
betB_homologous->PGPT0007165				
EC_3_5_1_4   amiE->PGPT0006115				
iaaM->PGPT0007195				
iaaT   yedL   ysnE->PGPT0007180				
ipdC   ppdC->PGPT0007185				
lysN->PGPT0007135				

mtr->PGPT0020755				
nitA   nitB   nitR   nit1->PGPT0000835				
nthA->PGPT0005660				
nthB->PGPT0005665				
patA->PGPT0007150				
poxL->PGPT0007160				
puuE->PGPT0007140				
pyc->PGPT0001420				
solA->PGPT0007125				
tpav   bioA   yhxA->PGPT0001925				
trpA->PGPT0007070				
trpB->PGPT0007075				
trpC->PGPT0007080				
trpCF->PGPT0007085				
trpD->PGPT0007090				
trpE   phnA->PGPT0007095				
trpEG->PGPT0007100				
trpF->PGPT0007115				
trpG   phnB->PGPT0007105				
trpR->PGPT0007130				
trpS->PGPT0007120				
yodT->PGPT0007136				
yugH->PGPT0007145				
Colonização de raízes				
abrB->PGPT0014790				
accA->PGPT0001695				
accB   bccP->PGPT0001700				
bioA->PGPT0022100				
bioB->PGPT0022120				
bioC->PGPT0022060				
bioD->PGPT0022115				
bioF->PGPT0022095				
bioH->PGPT0022065				
bioI   CYP107H->PGPT0022085				
bioM->PGPT0022045				
bioY->PGPT0022050				
birA   bpr->PGPT0022055				
bisC->PGPT0022135				
codY->PGPT0016270				
cysNC->PGPT0002395				
deoD->PGPT0013385				
fabB->PGPT0013310				
fabF->PGPT0008360				
fabH->PGPT0008355				
fabI->PGPT0008370				
fabZ->PGPT0008365				



fadD->PGPT0008380				
glmS   nodM->PGPT0017630				
glpA   glpD->PGPT0006775				
glpK->PGPT0018435				
glpP->PGPT0016585				
glpQ->PGPT0016810				
glpR->PGPT0018445				
glpS->PGPT0016815				
glpT->PGPT0016820				
iunH->PGPT0013465				
maa   nodL->PGPT0018611				
mazG->PGPT0008820				
nadA->PGPT0013365				
nadB->PGPT0013355				
nadC->PGPT0013370				
nadD->PGPT0013435				
nadE->PGPT0013445				
nadE2->PGPT0013450				
nadR->PGPT0013390				
nadM2->PGPT0013430				
nadX->PGPT0013360				
nodD->PGPT0015290				
nodD->PGPT0015290				
nodI->PGPT0015275				
nodJ->PGPT0015280				
nodN_like->PGPT0015282				
nodS->PGPT0015276				
nodT   ameC->PGPT0015295				
nodV->PGPT0015286				
nodW->PGPT0015288				
nodX->PGPT0022030				
npdA->PGPT0013485				
nucA   ushA   yhcR   yfkN->PGPT0013395				
nudC->PGPT0013440				
olsA->PGPT0014465				
olsB->PGPT0014470				
olsE->PGPT0014480				
pncA->PGPT0013470				
pncB->PGPT0013375				
pncC->PGPT0013455				
pncC2->PGPT0013460				
pntA->PGPT0013500				
pntB->PGPT0013505				
punA->PGPT0013380				
surE->PGPT0013405				
ushA->PGPT0013400				

xerC->PGPT0021995				
xerD->PGPT0022000				
yfkN->PGPT0013420				
yjjG->PGPT0013410				
ymfI   fabG   efpI->PGPT0003180				
yrfG->PGPT0013415				
znuA->PGPT0004220				
EPS				
adrA->PGPT0026210				
adrB->PGPT0026215				
aguA->PGPT0018635				
algA   xanB   rfbA   wbpW   pslB->PGPT0017875				
algF->PGPT0026110				
algH->PGPT0026120				
algJ->PGPT0026130				
algR->PGPT0025360				
amsB->PGPT0026490				
amsC->PGPT0026495				
amsD->PGPT0026500				
amsF   wceF->PGPT0026510				
amsG->PGPT0026515				
amsL->PGPT0026520				
amyA   malS->PGPT0018575				
ariR   ymgB->PGPT0016120				
bcsA   yhjN   celA->PGPT0022275				
bcsB   celB->PGPT0022280				
bcsZ   wssD   yhjM->PGPT0012170				
bglA->PGPT0019255				
bglB->PGPT0019165				
bglX->PGPT0019110				
bshA->PGPT0019565				
cd   ma   nplT->PGPT0012200				
celF   licH   chbF->PGPT0019105				
CHO1   pssA->PGPT0007695				
csxA->PGPT0019000				
cysE->PGPT0020265				
dltA->PGPT0020055				
dltB->PGPT0023380				
dltC->PGPT0020060				
dltD->PGPT0023385				
dltE->PGPT0013220				
DPM1_like   arnC   ppm1   wcaA->PGPT0017834				
EC_1_1_99_3A   gnd->PGPT0001300				
EC_1_1_99_3G   gadh3->PGPT0001305				
EC_3_2_1_28   alpha_trehalase->PGPT0014070				
epsJ->PGPT0026630				

epsM->PGPT0026640				
epsO->PGPT0026650				
exoM->PGPT0026550				
exoO->PGPT0026555				
exoP   vpsO->PGPT0026560				
exoQ->PGPT0026585				
exoY->PGPT0026575				
exoZ->PGPT0026580				
fcl->PGPT0022775				
fmtA->PGPT0023445				
galT->PGPT0017835				
glf->PGPT0022675				
glgA->PGPT0025880				
glgC->PGPT0025885				
glgP->PGPT0018545				
glgX->PGPT0018555				
gmd->PGPT0022770				
gtaC->PGPT0023460				
ISA   treX->PGPT0019225				
kdpD->PGPT0002755				
kdpE->PGPT0002760				
lacZ->PGPT0017810				
ltaS->PGPT0023375				
malL->PGPT0019145				
malz->PGPT0018560				
manB   yhxB->PGPT0017865				
mcbR   yncC->PGPT0023370				
mdoG->PGPT0013325				
melA->PGPT0017850				
mucR->PGPT0026010				
murQ->PGPT0019040				
nagZ->PGPT0012175				
neu1   nanA   nanB   nanH->PGPT0018755				
pelA->PGPT0026070				
pelB->PGPT0026075				
pelF->PGPT0026085				
pelG->PGPT0026090				
pglA->PGPT0018215				
phoB->PGPT0002660				
phoP   phoB1->PGPT0002665				
pslA->PGPT0026020				
pslD->PGPT0026025				
pssA->PGPT0007690				
pulA->PGPT0012195				
rcsA->PGPT0014840				
rcsB->PGPT0014845				

rcsC->PGPT0014850				
rcsD->PGPT0014855				
rcsF->PGPT0017705				
sacA->PGPT0018815				
sinI->PGPT0026295				
TC_GPH yihO xynP->PGPT0014410				
tagA tarA->PGPT0023455				
tagI tagU tagV->PGPT0023440				
treA treF->PGPT0019170				
treC->PGPT0014095				
treS->PGPT0014120				
tuaA->PGPT0015235				
tuaC->PGPT0015210				
tuaG ggaB->PGPT0015205				
ugtP->PGPT0023400				
uidA->PGPT0018200				
vpsE->PGPT0026167				
vpsI->PGPT0026169				
vpsQ->PGPT0026178				
wcaC->PGPT0023315				
wcaI->PGPT0023340				
wcaK->PGPT0023350				
wcaL->PGPT0023355				
wecA tagO rfe->PGPT0015240				
wecB->PGPT0018905				
wecC->PGPT0022670				
wza gfcE epsA->PGPT0025530				
xynY xynZ xynD xynA->PGPT0018625				
ydaL->PGPT0015296				
ydaM->PGPT0015297				
yihQ->PGPT0019385				
yqgM->PGPT0018547				
yteR yesR->PGPT0018255				