

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO**

**DISSERTAÇÃO**

**Isolamento e Caracterização de Bactérias Associadas  
a Rizosfera de Plantas Halófitas**

**Júlia Ferreira Xavier**

**2021**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**CIÊNCIA DO SOLO**

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS**  
**A RIZOSFERA DE PLANTAS HALÓFITAS**

**JÚLIA FERREIRA XAVIER**

*Sob a Orientação da Professora*  
**Irene da Silva Coelho**

*e Co-orientação do Professor*  
**Everaldo Zonta**

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestra**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

Seropédica, RJ  
Dezembro de 2021

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central/Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

X001i	<p>Xavier, Júlia Ferreira, 1993- Isolamento e caracterização de bactérias associadas a rizosfera de plantas halófitas/Júlia Ferreira Xavier. – Seropédica, 2021. 55 f. : il.</p> <p>Orientadora: Irene da Silva Coelho. Dissertação (Mestrado). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, 2021.</p> <p>1. Arroz. 2. Bactéria halotolerante. 3. Promoção de crescimento vegetal. 4. Solos salinos. I. Coelho, Irene da Silva, 1979-, orient. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo III. Título.</p>
-------	---

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO**

**JÚLIA FERREIRA XAVIER**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, área de Concentração em Biologia do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 08/10/2021.

---

Irene da Silva Coelho. Dra. UFRRJ  
(Orientadora)

---

Ricardo Luís Louro Berbara. Dr. UFRRJ

---

Luc Felicianus Marie Rouws. Dr. Embrapa Agrobiologia

Ao meu pai Ubirajara, a avó Paula  
e a minha tia Amélia  
*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, meu Pai celestial, pela dádiva divina da vida! E por me permitir viver com saúde e concluir mais um desafio.

Aos meus queridos pais, Silvana e Ubirajara, pela dedicação e amor, e por me estimular aos estudos e a leitura.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Irene da Silva Coelho pela confiança, dedicação e conhecimentos transmitidos, e por me orientar e estimular a ser uma profissional melhor.

Ao meu companheiro de vida e melhor amigo Tomaz, por sempre estar comigo nos momentos de apertos e felicidades. Gratidão pelo apoio e parceria.

Às minhas irmãs do coração Clara, Helena e Fernanda, pelo apoio incondicional e companheirismo durante quase toda a minha vida.

À minha amiga e companheira de trabalho Paula, pelo apoio no laboratório e pelas conversas e momentos de distração e amizade.

Ao meu amigo Elderson pela amizade de anos, e por me apoiar e estar comigo sempre.

À minha amiga Tamyres, pelo apoio e companheirismo. E pela ajuda e ensinamentos da vida acadêmica.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório João, Isabel, Juliana, Isabela, Thereza e Gustavo, pela disposição em ajudar. E por todo apoio, conversas e perrengues no laboratório.

Ao Rosimar do LSP-UFRRJ, pela ajuda nas coletas e realização das análises químicas do solo, e pela disponibilidade em ajudar.

Ao meu co-orientador Prof<sup>o</sup> Zonta, pela disponibilidade em ajudar e conceder o espaço e suporte necessário para a realização desse trabalho.

À pós-doutoranda Dayanne e à doutoranda Theréssè do LABACVET, pelos conhecimentos e experiências de laboratórios transmitidos.

Às professoras Shana e Miliane, pelo apoio, espaço e suporte para realização desse trabalho.

Ao professor Luc, pesquisador da Embrapa Agrobiologia, pela oportunidade de aprendizado e por compartilhar experiências e conhecimento, e por me receber em seu laboratório.

À Karine, analista da Embrapa Agrobiologia, pela aprendizagem, disponibilidade em ajudar nas análises de sequenciamento.

A toda equipe do LABACVET e do Laboratório de Diversidade Microbiana do Departamento de Veterinária da UFRRJ.

À Prof<sup>a</sup> Maria Juliano e à Rafaela Grenfell da Unifesp, pela receptividade e oportunidade de aprendizado.

A todos professores e servidores que estiveram envolvidos na minha formação e na realização desse trabalho.

A minha Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela receptividade, ensinamentos e experiências vividas.

As agências de fomento CAPES, CNPq e FAPERJ pelo financiamento das pesquisas e atividades relacionadas ao presente trabalho.

E a CAPES, pela concessão da bolsa que me sustentou e permitiu a minha dedicação exclusiva este trabalho.

## **BIOGRAFIA**

Julia Ferreira Xavier, nascida no Rio de Janeiro, concluiu o ensino médio no ano de 2010. Possui graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (2019), onde atuou em projetos com bactérias diazotróficas em gramíneas no Laboratório de Gramíneas na Embrapa Agrobiologia. Ainda na graduação foi monitora da matéria de Fisiologia Vegetal. Em 2019 ingressou no Mestrado no Programa de Pós-graduação em Agronomia - Ciências do Solo pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, desenvolvendo trabalhos com bactérias rizosféricas associadas a plantas halófitas provenientes de solos salinos.

## RESUMO

XAVIER, Júlia Ferreira. **Isolamento e caracterização de bactérias associadas a rizosfera de plantas halófitas**. 2021. 55f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2021.

A maioria das espécies vegetais, principalmente culturas agrícolas, não toleram altas concentrações de sais. No entanto, plantas do grupo halófitas são adaptadas a solos salinos. Na rizosfera das plantas halófitas ocorrem associações com microrganismos que auxiliam o crescimento vegetal aumentando a resistência ao estresse salino. Desse modo, o objetivo do trabalho foi isolar e identificar bactérias da rizosfera de plantas halófitas de diferentes ambientes salinos no estado do Rio de Janeiro e avaliar sua capacidade de promoção de germinação e crescimento de sementes de arroz. Foram coletadas amostras de solos rizoféricos das plantas halófitas *Salicornia gaudicahudiana*, *Salicornia fruticosa*, *Blutaparon portulacoides*, *Sporobolus virginicus* e *Cyperus ligularis* encontradas em ambientes costeiros, como mangue e salinas. Para o isolamento das bactérias foram utilizados meios de cultura acrescidos de 1%, 5%, 15%, 20% e 25% de NaCl. As bactérias isoladas foram classificadas de acordo o crescimento em diferentes concentrações NaCl e foram identificadas pela técnica *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight/ Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS) e pelo sequenciamento do gene *rrs* que codifica o rRNA 16S. Foi avaliado o potencial de promoção de crescimento do arroz na concentração de 50 mM e 200 mM de NaCl de nove estirpes de bactérias halotolerantes pertencentes aos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*. Foram analisados a porcentagem de germinação, o comprimento total da raiz, volume da raiz, superfície de contato radicular, número de ápices e comprimento total da parte aérea. Foram isoladas um total de 315 bactérias classificadas como não halofílicas (99/315), halotolerantes (171/315) e halofílicas moderadas (32/315). Destas, 286 foram analisadas pela técnica proteômica MALDI-TOF MS, sendo 57% (165/286) identificadas em nível seguro para gênero. Dentre as bactérias não identificadas pela técnica MALDI TOF-MS, foram selecionados isolados halotolerantes e halofílicos moderados para a identificação pelo sequenciamento do gene *rrs*. A inferência do gênero foi possível em 97,7% (42/43) dos isolados. Os gêneros mais abundantes identificados foram *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* e *Bacillus*. Na concentração de 50 mM de NaCl, que se mostrou ideal para a germinação das sementes de arroz, os isolados P51 e P164, relacionadas ao gênero *Pseudomonas*, proporcionaram aumento da maioria dos parâmetros analisados em comparação ao tratamento não inoculado. Nessa concentração, os isolados B231, B67 e B143, pertencentes ao gênero *Bacillus*, promoveram alongamento radicular e maior número de ápices. Já a 200 mM, concentração inibitória do processo germinativo, os isolados B231 e B294, pertencentes ao gênero *Bacillus*, proporcionaram aumento no comprimento total das raízes em comparação ao tratamento não inoculado. Estes resultados confirmam que a rizosfera de plantas halófitas representa um ambiente promissor para o isolamento de bactérias halotolerantes e halofílicas, e que isolados de *Pseudomonas* e *Bacillus* halolerantes podem promover o crescimento de plantas de arroz na presença ou ausência de estresse salino.

**Palavras-chave:** Arroz. Bactéria halotolerante. Promoção de crescimento vegetal. Solos salinos.



## ABSTRACT

XAVIER, Júlia Ferreira. **Isolation and characterization of bacteria associated with the rhizosphere of halophyte plants.** 2021. 55p. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2021.

Most plant species, especially crops, do not tolerate high salt concentrations. However, halophytic plants are adapted to saline soils. In the rhizosphere of these plants, associations with microorganisms can promote plant growth and increase resistance to salt stress. Therefore, this work aimed to isolate and identify bacteria from the rhizosphere of halophyte plants from different saline environments in the state of Rio de Janeiro and to evaluate their capacity to promote growth of rice. Samples of rhizospheric soils from halophytic plants *Salicornia gaudicahudiana*, *Salicornia fruticosa*, *Blutaparon portulacoides*, *Sporobolus virginicus*, and *Cyperus ligularis* were collected. Culture media amended with 1%, 5%, 15%, 20%, and 25% of NaCl were used for bacterial isolation. The bacterial strains were classified according to growth at different NaCl concentrations and were identified by *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight/ Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS) and by *rrs* gene sequencing. Subsequently, the potential of nine strains of halotolerant bacteria belonging to the genus *Pseudomonas* and *Bacillus* in promoting rice growth at concentrations of 50 mM and 200 mM was analyzed. Thus, germination percentage, total root length, root volume, root surface area, number of tips, and total shoot length were analyzed. A total of 315 bacteria classified as non-halophilic (99/315), halotolerant (171/315) and moderately halophilic (32/315) were isolated. Of the isolated bacteria, 286 were analyzed by the proteomic technique MALDI-TOF MS and classified at the genus level 57% (165/286). For those that could not be identified by MALDI TOF-MS, selected isolates were identified by 16S rRNA gene (*rrs*) gene sequencing. The inference of the genus and/or species was possible in 97.7% (42/43) of the isolates. The most abundant genera identified were *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, and *Bacillus*. At the optimal salt concentration of 50 mM NaCl, the isolates P51 and P164, belonging to the genera *Pseudomonas*, provided an increase in most parameters related to rice seed germination analyzed, as compared to the non-inoculated treatment. Isolates B231, B67, and B143 related to the genus *Bacillus* promoted root elongation and a higher number of tips. At the stressing concentration of 200 mM, isolates B231 and B294, related to *Bacillus* provided an increase in the total length of roots compared to the non-inoculated treatment. These results confirm that the rhizosphere of halophyte plants represents a promising environment for the isolation of halotolerant and halophilic bacteria and that halotolerant bacteria from the genera *Pseudomonas* and *Bacillus* can promote the germination and initial development of rice seeds in the presence or absence of salt stress.

**Key words:** Rice. Halotolerant bacteria. Plant growth promotion. Saline soils.

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>2</b>
2.1	Solos Afetados por Sais .....	2
2.2	Caracterização Química e Classificação dos Solos Halomórficos.....	3
2.3	Plantas Halófitas.....	4
2.4	Microrganismos Halofílicos e Halotolerantes.....	5
2.5	Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal em Ambientes Salinos.....	8
<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>9</b>
3.1	Caracterização da Área de Estudo.....	9
3.2	Coleta das Plantas e dos Solos.....	11
3.3	Caracterização Química do Solo.....	11
3.4	Extração dos Solos Rizosféricos.....	12
3.5	Isolamento das Bactérias Rizoféricas.....	12
3.6	Teste de Salinidade e Classificação dos Isolados.....	12
3.7	Identificação das Bactérias Pela Técnica Proteômica MALDI TOF-MS ( <i>Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization</i> ) .....	13
3.8	Identificação de Bactérias Pela Técnica Genotípica.....	14
3.8.1	Extração de DNA.....	14
3.8.2	Amplificação e sequenciamento do gene <i>rrs</i> .....	14
3.9	Bioprospecção de Bactérias Halotolerantes Promotoras de Crescimento Vegetal.....	15
3.9.1	Análise da germinação do arroz em diferentes concentrações de sal.....	15
3.9.2	Potencial dos isolados bacterianos halotolerantes na redução do estresse salino do arroz.....	15
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>16</b>
4.1	Identificação de Plantas Halófitas e Caracterização Química do Solo.....	16
4.2	Isolamento de Bactérias Rizosféricas e Classificação Quanto a Salinidade.....	19
4.3	Identificação das Bactérias Rizoféricas.....	20
4.4	Distribuição das Bactérias Rizosféricas.....	25
4.5	Efeito da Salinidade na Germinação do Arroz ( <i>Oryza sativa</i> ) .....	29
4.6	Potencial das Bactérias Halotolerantes na Redução do Estresse Salino do Arroz ( <i>Oryza sativa</i> ) .....	30
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>36</b>
<b>6.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>37</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>38</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A salinidade do solo e da água está entre os principais fatores de estresse para as plantas, podendo limitar severamente o crescimento e produção vegetal (AHMAD; SHARMA, 2008). A maioria das espécies vegetais, principalmente culturas agrícolas, não toleram altas concentrações de sais, uma vez que a salinidade prejudica diversos processos fisiológicos, como a evapotranspiração, o potencial hídrico e a resistência estomática (AHMAD; SHARMA, 2008; KATERJI et al., 2000). No entanto, plantas halófitas são adaptadas a solos com altas concentrações de sais, estando distribuídas em diversos ambientes salinos, principalmente nas regiões áridas e semiáridas e zonas costeiras tropicais e subtropicais (KUMARI et al., 2015).

Em solos salinos a comunidade microbiana geralmente é formada por microrganismos halofílicos, aqueles que necessitam da presença de mais de 1% de NaCl para seu desenvolvimento; e por microrganismos halotolerantes, estes crescem tanto na ausência quanto na presença de altas concentrações de sais (AMOOZEGAR et al., 2019; SINGH et al., 2019).

A rizosfera das plantas halófitas apresentam comunidades microbianas especializadas que auxiliam no funcionamento vegetal, contribuindo para a tolerância a salinidade (RUPPEL et al., 2013). Estes microrganismos podem atuar através de mecanismos como a regulação de enzimas como superóxido dismutase, peroxidase e catalase, que eliminam o excesso de espécies reativas de oxigênio, protegendo as plantas da toxicidade salina (JHA; SUBRAMANIAN, 2014; ISLAM et al., 2016; QIN et al., 2016); a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fósforo ou potássio e produção de sideróforos, que melhorando a nutrição vegetal (DODD; PÉREZ, 2012; ETESAMI; BEATTIE, 2018; ETESAMI, 2018); a interferência na sinalização hormonal com a produção da enzima ACC deaminase, que converte o precursor do etileno das plantas para amônia e  $\alpha$ -cetobutirato, o que reduz a concentração de etileno na planta e evita a inibição do crescimento mediada pelo etileno em resposta a estresses como a salinidade (ETESAMI et al., 2014; GLICK, 2014; SINGH et al., 2015; ETESAMI; BEATTIE, 2018); e a produção de ácido-3-indol-acético (AIA), que resulta em mudanças na arquitetura radicular e facilita a absorção de nutrientes e água (VACHERON et al., 2013; GOSWAMI et al., 2014).

O melhoramento tradicional e a engenharia genética são técnicas utilizadas no desenvolvimento de plantas resistentes a salinidade, porém estas técnicas são limitadas devido ao efeito do sal em diversos processos fisiológicos da planta (MUNNS; TESTER, 2008; DODD; PÉREZ, 2012). Uma estratégia alternativa que pode ser utilizada para estimular ou aumentar a resistência de espécies agrícolas a salinidade é a introdução de microrganismos halotolerantes e/ou halofílicos que promovam o crescimento vegetal, minimizando os efeitos fisiológicos e físicos do estresse salino nas plantas (DODD; PÉREZ, 2012). Dessa forma, as pesquisas sobre a comunidade microbiana rizosférica associada a plantas naturalmente adaptadas a ambientes salinos são importantes para a compreensão da interação entre microrganismos e plantas sob condições salinas, assim como a definição de mecanismos envolvidos na promoção do crescimento vegetal em condições de estresse e a identificação de dos microrganismos associados a esses ambientes (MAPELLI et al., 2013).

Baseado no que foi exposto, a hipótese do trabalho é que a rizosfera de plantas halófitas presentes em solos salinos é um ambiente promissor para o isolamento de bactérias halotolerantes e halofílicas promotoras de crescimento vegetal. O objetivo foi isolar e identificar bactérias da rizosfera de plantas halófitas de diferentes ambientes salinos no estado do Rio de Janeiro e avaliar sua capacidade de promoção de crescimento vegetal.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Solos Afetados por Sais

A salinização está relacionada a uma condição restrita de drenagem com a presença de lençol freático alto ou baixa permeabilidade que impedem a lavagem dos sais em profundidade, e a alta taxa de evapotranspiração que favorece a ascensão capilar dos sais para a superfície (RIBEIRO et al., 2016; RICHARDS, 1954). A salinização pode ser um processo natural ou artificialmente induzido por ações antrópicas, principalmente em áreas irrigadas (RIBEIRO et al., 2016; RICHARDS, 1954). As maiores fontes de sais dos solos halomórficos são a intemperização de rochas primárias, deposição atmosférica, água salina de irrigação e do efeito de drenagem imperfeita, contato com a água do mar, o uso de fertilizantes orgânicos e inorgânicos, lamas e efluentes de esgoto, salmouras de depósitos naturais e de campos de petróleo e mineração (JURINAK; SUAREZ, 1990).

O processo de salinização natural primária pode ser desencadeado por diversas causas, uma das principais é a invasão da água salgada que deposita sais nos terrenos atingidos. Este processo é característico das regiões costeiras, influenciadas pelo movimento das marés. Ocorre ao longo de toda costa brasileira, estando relacionado com áreas de mangue e várzea, localmente denominadas de apicuns (RIBEIRO et al., 2016).

A zona costeira do Brasil abrange 7.408 km de território, em que 6.786 km apresentam o ecossistema mangue (SCHAEFFER-NOVELLI et al., 2000). Os manguezais são ambientes terrestres e marinhos, característicos de regiões tropicais e subtropicais que estão sujeitos às marés. Devido ao contato com a água do mar, os mangues são ambientes salinos em que a vegetação é composta por árvores, arbustos e herbáceas, com características fisiológicas e adaptações morfológicas especiais que lidam com constantes alagamentos, salinidade e a falta de oxigênio (SCHAEFFER-NOVELLI et al., 2000). Geralmente associados ao ecossistema mangue, são encontradas áreas chamadas planícies hipersalinas ou apicuns, frequentemente encontradas em zonas de transição com florestas de mangue (COSTA; HERRERA, 2016).

Os apicuns são áreas planas de elevada salinidade ou acidez, e estão localizadas na região supra-maré, acima da maré alta; desprovidas de vegetações ou com vegetações rasas, sendo predominante de vegetais de porte herbáceo resistentes às condições salinas (HADLICH et al. 2008; PELEGGRINI, 2000). As condições hipersalinas são formadas a partir das altas taxas de evaporação combinadas com uma menor entrada de água doce e frequência reduzida de inundações pelas marés, aumentando a concentração de sais no solo (PELEGGRINI, 2000). No litoral brasileiro é encontrado apicuns associados a manguezais desde a Ilha de Santa Catarina até o estado do Pará, porém poucos trabalhos relacionados ao tema são desenvolvidos (PELEGGRINI, 2000). Na Baía de Sepetiba, encontram-se os principais remanescentes de manguezais do município do Rio de Janeiro, e um dos principais em todo o estado (SOARES, 1998). A região da baixada de Guaratiba-Sepetiba é caracterizada por distintas unidades paisagísticas, e a Planície de Guaratiba é uma extensa área de planície costeira. Em relação a vegetação, a Planície de Guaratiba é dividida em Planície da Maré Superior, hipersalina e desprovida de vegetação superior e, em Planície da Maré Inferior, com vegetação arbórea e arbustiva de mangue (PELEGGRINI, 2000).

Ao longo da zona costeira, em áreas de clima quente com grande taxa de evaporação, há a formação de lagoas costeiras hipersalinas, caracterizadas como corpos d'água fechados que contêm concentrações altas de sais, com níveis que ultrapassam os da água do mar (HÖHN; TOBSCHALL; MADDOCK, 1986). O litoral leste do estado do Rio de Janeiro é caracterizado por um conjunto de diferentes lagoas costeiras (RAPOSO et al., 2018). A Lagoa de Araruama é o maior sistema lagunar da região, com extensão de 220 km<sup>2</sup>. A bacia hidrográfica da Lagoa

de Araruama é composta por lagoas satélites, como Pitanguinha, Permambuco, Azul e Vermelha (PRIMO; BIZERRIL, 2002). A Lagoa Vermelha é um sistema lacustre hipersalino, separada do Oceano Atlântico por um banco de areia (cerca de 9 m acima do nível do mar). O balanço hídrico da Lagoa Vermelha é controlado por chuvas, evaporação e influxo de água subterrâneas marinhas e terrestres de diferentes salinidades. A área terrestre ao redor da lagoa é essencialmente plana e coberta por dunas e planícies hipersalinas (HÖHN; TOBSCHALL; MADDOCK, 1986). A água salina da Lagoa Vermelha é de origem marinha, apresentando alta concentração de sais halita (HÖHN; TOBSCHALL; MADDOCK, 1986). Os entornos da lagoa vermelha são constituídos de espécies vegetais halófitas (CARVALHO et al., 2018).

As salinas do estado do Rio de Janeiro localizam-se no sistema lagunar de Araruama, com microclima da região semiárido, com índices pluviométricos de 700 mm e evaporação de 1.400 mm/ano (DA SILVA et al., 2007). As salinas são corpos de água salgada natural ou artificial, em que há precipitação (cristalização) do cloreto de sódio devido a evaporação das águas. Neste processo, a água puxada da Lagoa de Araruama, através de bombas, é dispensada em uma série de tanques. No primeiro tanque, chamado de tanque de carga, decanta-se a matéria orgânica. No segundo e no terceiro tanque, chamado pré concentradores e concentradores, onde ocorre a concentração de carbonato de cálcio e sulfato de cálcio, respectivamente. No último tanque, chamado de cristalizadores, a salmoura precipita formando a hialita (SILVA; SANTOS, 1997). A indústria salineira nesta região opera desde o século XIX, porém entrou em processo de decadência na década de 70. Decorrente deste fato muitas salinas foram desativadas, essas áreas não apresentam nenhum indício de atividade industrial recentes e há presença de vegetação rasteiras, gramíneas e arbustos (DESLANDES et al., 2000). As populações vegetais presente nas salinas são densas e com pouca diversidade, geralmente são espécies halófitas (ZAFRILLA et al., 2010).

## 2.2 Caracterização Química e Classificação de Solos Halomórficos

O conteúdo de sais solúveis é comumente mensurado através da condutividade elétrica (CE), pois é um método confiável, econômico e fácil. O método para avaliação da condutividade elétrica é baseado no conceito de que a corrente elétrica transportada por uma solução salina sob condição padrão, aumenta à medida que a concentração de sal da solução aumenta. Sendo assim, a condução da corrente elétrica é diretamente proporcional a quantidade de íons na solução (SPARKS, 2003). No sistema internacional, a condutividade elétrica é expressa em siemen (S) por metro ( $S.m^{-1}$ ) ou decisiemens por metro ( $dS.m^{-1}$ ) (SPARKS, 2003). A condutividade elétrica do extrato de uma pasta saturada (CEes) de uma amostra de solo é um método comumente utilizado para medir a salinidade do solo em laboratório (SPARK, 2003).

O sódio é um dos principais íons presentes em ambientes salinos, e há vários parâmetros que podem ser utilizados para mensurar sua concentração na solução. Um dos parâmetros mais utilizados para estimar o status de sódio trocável do solo é chamado porcentagem de sódio trocável (PST), que é calculado pela razão do sódio trocável pela CTC do solo multiplicada por 100 (RIBEIRO et al., 2016; SPARKS, 2003).

De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos (SiBCS), os solos halomórficos não constituem uma classe no 1º nível categórico do sistema. A salinidade e sodicidade são atributos para classificação em níveis categóricos mais baixos como o 2º, 3º e 4º níveis, e são considerados dentro dos primeiros 100 ou 120 cm do perfil. Os atributos diagnósticos que indicam que os solos são afetados por sais é o caráter salino, sálico, solódico e sódico. O caráter salino é uma propriedade referente à presença de sais em quantidades expressas por  $CE \geq 4$  e  $< 7$   $dS.m^{-1}$ ; o caráter sálico pela  $CE \geq 7$   $dS.m^{-1}$ ; o caráter solódico

apresenta PST variando de 6 a <15%, enquanto o caráter sódico o PST é maior ou igual a 15% (SANTOS et al., 2018).

### 2.3 Plantas Halófitas

Para a maioria das espécies de plantas, a salinidade afeta a evapotranspiração, o potencial hídrico e a resistência estomática, reduzindo ou impossibilitando o crescimento vegetal (AHMAD; SHARMA, 2008; KATERJI et al., 2000). Em relação a tolerância a condições salinas, as plantas são classificadas como glicófitas e halófitas. As plantas glicófitas representam o grupo de plantas menos tolerantes aos efeitos dos sais enquanto as plantas halófitas representam o grupo capazes de tolerar altas concentrações de sais (DIAS et al., 2016).

As plantas halófitas naturalmente sobrevivem a ambientes salinos e hipersalinos com concentração de sal acima de 1 M. Cerca de 1% da flora mundial é representada por halófitas, que estão distribuídas principalmente em regiões áridas, semiáridas e em zonas úmidas ao longo das costas litorâneas tropicais e subtropicais (KUMARI et al., 2015; FLOWERS; COLMER, 2008). Dependendo da resistência e demanda por sais de sódio (NaCl), as plantas halófitas podem ser classificadas como halófitas facultativas ou obrigatórias. As facultativas podem crescer em condições de baixa salinidade, enquanto as obrigatórias necessitam de altas concentrações de sal para sobreviver e crescer (KUMARI et al., 2015).

Apesar das plantas halófitas e glicófitas apresentarem diferenças marcantes na tolerância à salinidade, elas compartilham características necessárias para a sobrevivência em solos salinos. Essas características incluem o controle e exclusão de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  na raiz, compartimentalização de íons em órgãos ou células, síntese de solutos orgânicos compatíveis no citoplasma e manutenção das concentrações de nutrientes essenciais como N e K (WANG; XIA, 2018; FLOWERS; COLMER, 2008). As plantas submetidas ao estresse salino ajustam sua fisiologia através de mudanças metabólicas e estruturais para alcançar o equilíbrio homeostático (osmótico, iônico e bioquímico) e a desintoxicação celular (eliminação de espécies reativas de oxigênio e a extrusão e compartimentalização tóxica). Estes ajustes são sincronizados e resultam na tolerância ou sensibilidade da planta (PRISCO et al., 2016).

Uma das consequências do estresse salino para as plantas é a perda de água intracelular. O ajustamento osmótico é um processo importante para a planta manter o turgor celular e se desenvolver em condições salinas (SINGH et al., 2015). As plantas tolerantes ao estresse salino acumulam metabólitos chamados de solutos orgânicos compatíveis no citoplasma, aumentando o potencial osmótico celular para equilibrar-se com o meio externo da célula e neutralizar as altas concentrações de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  no vacúolo (FLOWERS et al., 2015; TÜRKAN; DEMIRAL, 2009). Em plantas halófitas a concentração de solutos orgânicos compatíveis geralmente é alta sendo importante para manter a homeostase (TÜRKAN; DEMIRAL, 2009). No entanto, em glicófitas, a concentração de solutos orgânicos que se acumula é menor, não sendo capaz de gerar pressão osmótica; possivelmente a acumulação de solutos orgânicos em glicófitas desempenha a função de eliminar os radicais livres de oxigênio causado pelo estresse salino (TÜRKAN; DEMIRAL, 2009; SMIRNOFF; CUMBES, 1989). As plantas glicófitas apresentam diferentes mecanismos para evitar o acúmulo tóxico de  $\text{Na}^+$  e restaurar a homeostase iônica, como: a extrusão de  $\text{Na}^+$  para o meio extracelular; a compartimentalização de  $\text{Na}^+$  nos vacúolos; o controle do carregamento de  $\text{Na}^+$  no xilema; a retenção de  $\text{Na}^+$  por barreiras apoplásticas; reciclagem de  $\text{Na}^+$  no floema; e alocação de sais nas folhas mais velhas (YAMAGUCHI et al., 2013).

As plantas halófitas apresentam mecanismos básicos envolvidos na manutenção do equilíbrio osmótico em ambientes salinos como a acumulação de sais, principalmente NaCl, no vacúolo e a acumulação de sais inorgânicos no citoplasma, acumulando-se nas partes da planta

especialmente nos órgãos de transpiração como a folha (HASANUZZAMAN et al., 2014). A acumulação de sais em vacúolos é evidente em plantas dicotiledôneas halófitas dos gêneros *Salicornia* e *Suaeda*, plantas com folhas suculentas, compostas por células grandes na qual o vacúolo ocupa maior parte da célula. Nestas plantas, a concentração de sódio pode exceder 1.000 nM. As raízes das plantas de mangue *Bruguiera gymnorhiza*, compartimentalizam íons salinos e compostos orgânicos nas raízes (HASANUZZAMAN et al., 2014). As folhas suculentas é uma característica típica de plantas halófitas acumuladoras de sais; devido à alta concentração de sais, estas plantas absorvem grandes quantidades de íons e compartimentalizam nos vacúolos mantendo o turgor celular (YUAN et al., 2015; BRECKLE, 1995).

As plantas halófitas e glicófitas apresentam diferentes mecanismos de compartimentação de íons. A fotossíntese e os cloroplastos das plantas glicófitas são danificados pela alta salinidade devido à baixa compartimentalização de íons. Em contraste, o cloroplasto e a mitocôndria das plantas halófitas são protegidos em condição de alta salinidade devido à alta compartimentalização de íons (YUAN et al., 2015). Outra característica encontrada em plantas adaptadas a alta salinidade são estruturas secretoras de sais, encontradas na epiderme de algumas espécies de plantas halófitas. Essas estruturas secretam o excesso de íons através de glândulas ou vesículas para o meio externo, regulando o conteúdo de sais (YUAN et al., 2016).

As raízes das plantas glicófitas e halófitas comportam-se de forma diferente em condições de estresse salino. Em células de raízes de plantas glicófitas como o feijão (*Phaseolus vulgaris*), a adição de 80 mM de sal resulta na vesiculação celular e aumento do vazamento de solutos (CACHORRO et al., 1995). Em contraste, as raízes de plantas pseudohalófitas como algumas espécies da família Rhizophoraceae e Poaceae presentes em manguezais apresentam alta capacidade de exclusão de sais, protegendo -se do estresse salino. Os possíveis mecanismos envolvidos na exclusão de sais é a reciclagem de íons no floema e as barreiras apoplásticas nas raízes. Estas barreiras apoplásticas incluem a estria de Caspary e lamelas de suberina na endoderme e exoderme celular das raízes (YUAN et al., 2015). As estrias de Caspary apresentam a principal função de bloquear a via apoplástica não seletiva de água e de íons dos tecidos vasculares das raízes (MA; PETERSON, 2003). As lamelas de suberina cobrem completamente as paredes celulares primárias impedindo a passagem de água e íons através da membrana plasmática no sistema vascular das raízes (STEUDLE; PETERSON, 1998). Em arroz (*Oryza sativa*) estudos indicam que a capacidade de uma cultivar resistir ao estresse salino varia com a localização, quantidade e composição química das barreiras apoplásticas das raízes (KRISHNAMURTHY et al., 2009).

Para evitar o dano do sal no citoplasma, diversos genes estão envolvidos nos mecanismos reguladores da tolerância a salinidade. O gene NHX codifica o transportador antiporte Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> vacuolar que participa da compartimentalização de íons no vacúolo; o gene SOS1 codifica o transportador antiporte Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> na membrana plasmática que exclui o Na<sup>+</sup> para fora da célula; os genes PIP e TIP estão envolvidos na codificação de aquaporinas (YUAN et al., 2015; BLUMWALD, 2000). Os mesmos genes podem estar presentes em plantas halófitas e glicófitas, porém apresentam diferentes padrões de expressão devido as estratégias de sobrevivência (HIMABINDU et al., 2016).

## 2.4 Microrganismos Halofílicos e Halotolerantes

Os microrganismos halofílicos são classificados em três grupos, de acordo com condições ótimas de crescimento em diferentes concentrações de sais: halofílicos fracos, moderados e extremos, que crescem respectivamente em 1-5%, 2-20% e  $\geq 20\%$  de NaCl. Em

contraste, os microrganismos não halofílicos crescem otimamente em concentrações menores que 1% de NaCl. Os microrganismos halotolerantes sobrevivem na presença e na ausência de altas concentrações de NaCl (AMOOZEGAR et al., 2019; SINGH et al., 2019).

Microrganismos eucarióticos e procarióticos, incluindo fungos, bactérias e arqueas são capazes de se adaptarem a uma série de mudanças osmóticas no meio externo (RUPPEL et al., 2013). Os microrganismos halofílicos podem ser encontrados nos três domínios: Archaea, Bacteria e Eukarya. As arqueas aeróbicas da ordem Halobacteriales, família Halobacteriaceae, são estritamente microrganismos halofílicos, estes microrganismos são altamente adaptados às condições salinas, e a maioria não apresenta crescimento em concentrações de NaCl abaixo de 2,5-3,0 M (OREN, 2013). Esses microrganismos são os principais componentes das populações microbianas presentes no Mar Morto, em lagoas hipersalinas e em lagoas de cristalização de hialita (OREN, 2002). A maioria dos representantes halofílicos do domínio Bacteria estão presentes no filo Proteobacteria, como a família Halomonadaceae (classe Gammaproteobacteria, ordem Oceanospirillales). Também são encontrados representantes nos filos Cyanobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Spirochaetes e Bacteroidetes (OREN, 2008; OREN, 2002).

Os microrganismos halotolerantes são relatados em diversos ecossistemas, principalmente bactérias e cianobactérias (RUPPEL et al., 2013). O domínio Bacteria apresenta microrganismos halofílicos e halotolerantes, distribuídos em diversos subgrupos filogenéticos (OREN, 2002). Em uma área com solo extremamente salino- alcalino no nordeste da China foram isoladas estirpes de bactérias halofílicas e halotolerantes pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Nesterenkonia*, *Zhihengliuella*, *Halomonas*, *Stenotrophomonas*, *Alkalimonas* e *Litoribacter* (SHI et al., 2012).

Os mecanismos que permitem a adaptabilidade dos microrganismos aos ambientes salinos são semelhantes entre as diferentes classes. As principais estratégias para evitar o estresse salino incluem membranas específicas e a construção de paredes celulares, bombeamento de íons para fora da célula, ajustamento osmótico celular a partir da acumulação de solutos orgânicos compatíveis e a adaptação de proteínas e enzimas (RUPPEL et al., 2013).

Uma das adaptações dos microrganismos em ambientes com alta concentração de sais é evitar a perda de água e plasmólise através da construção e composição de uma parede celular específica (RUSSEL, 1989; SUTTON et al., 1991). A estabilidade da membrana citoplasmática é importante para a viabilidade celular, a mudança na composição dos lipídeos polares promove mecanismos para preservar a estrutura bicamada da membrana (RUSSEL, 1989; SUTTON et al., 1991). A membrana plasmática apresenta uma mistura de lipídeos que podem ser agrupados em bicamadas e aqueles que se agregam em estruturas não lamelares como hexagonais e cúbicas (SUTTON et al., 1991). As fases não lamelares são importantes para a estrutura e estabilidade da membrana plasmática (SUTTON et al., 1991). A adaptação das células em alterar a composição de ácidos graxos causa uma modificação na proporção de camadas do tipo bicamada e não lamelar (SUTTON et al., 1991). As mudanças na composição lipídica podem estar relacionadas ao aumento na fluidez da membrana. A fluidez na membrana permite que esta seja mais estável, porém maleável e dinâmica (RUSSEL, 1989).

A membrana citoplasmática das arqueas halofílicas apresentam lipídeos com grupamentos éter que são difíceis de serem degradados, fazendo com que as membranas plasmáticas de arqueas sejam mais adaptadas a sobrevivência em ambientes extremos do que em bactérias e eucariotos que apresentam lipídeos do tipo ésteres (RUPPEL et al., 2013). Em bactérias halotolerantes e halofílicas observa-se modificações nas proporções de fases bicamada e de fases não lamelares da membrana plasmática, e concomitante ocorre modificações na composição dos ácidos graxos de acordo com o aumento de sal no meio externo (SUTTON et al., 1991). Determinados membros da ordem Halobacteriales apresentam



uma parede celular com uma camada S (tipo de envelope celular), a qual a principal constituinte é uma glicoproteína com alto peso molecular. A glicoproteína constitui de 40 a 50% da proteína da parede celular, e requer altas concentrações de NaCl para se estabilizar (RUPPEL et al., 2013; OREN, 2006). Em bactérias halofílicas gram-negativas, geralmente o conteúdo de ácidos graxos tipo ciclopropano e ácidos graxos insaturados aumentam com a concentração de sal (VENTOSA et al., 1998). Em bactérias halofílicas gram-negativas, a concentração de ácidos graxos de cadeias ramificadas se modifica de acordo com a salinidade (RUSSEL, 1989). Em *Marinococcus halophilus*, o aumento da salinidade causou o aumento do conteúdo de ácidos graxos saturados e a diminuição do conteúdo de ácidos graxos de cadeia ramificada. Ácidos graxos do tipo ciclopropano não foram encontrados (MONTEOLIVA-SANCHEZ et al., 1989).

Diversos processos bioenergéticos e bombas de íons estão envolvidos na regulação das concentrações iônicas intracelulares e no ajustamento osmótico. O gradiente eletroquímico de prótons é a força motora para a extrusão do Na<sup>+</sup> da célula, mantendo as concentrações intracelulares de Na<sup>+</sup> relativamente baixa, este processo é mediado por transportadores Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> (OREN, 2006). O ajustamento osmótico é a propriedade básica necessária para que os microrganismos halofílicos e halotolerantes sobrevivam às condições salinas sem a perda de água para o ambiente. Para isso, é necessário que o citoplasma desses organismos mantenha no mínimo um estado isosmótico com o meio externo (OREN, 2011).

Os microrganismos utilizam fundamentalmente dois tipos de estratégia para equilibrar osmoticamente seu citoplasma com o meio externo: as células podem manter altas concentrações de sais intracelular, osmoticamente equivalente ao meio externo, todo sistema intracelular deve ser adaptado a alta concentração de sal – estratégia de acumulação de sais; ou as células mantem as concentrações de sais baixas em seu citoplasma, a pressão osmótica do meio é equilibrado por solutos orgânicos compatíveis, nenhuma adaptação especial no sistema intracelular é necessário – estratégia de acumulação de solutos orgânicos compatíveis (OREN, 2008). Na estratégia em que há acúmulo de sais no citoplasma, geralmente os íons de potássio são mais dominantes de sódio, sendo o cloreto o íon em maior dominância no interior da célula (OREN, 2001). Esta estratégia requer uma ampla adaptação das enzimas intracelulares ao sal, pois as proteínas devem manter sua conformação adequada e atividade em concentrações quase saturadas de sal (OREN, 2008). As membranas dos microrganismos halofílicos apresentam transportadores antiporte Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> que liberam o sódio (Na<sup>+</sup>) de dentro da célula para o meio externo. O potássio (K<sup>+</sup>) pode entrar na célula passivamente via sistema uniporte em resposta ao potencial de membrana e via transporte ativo primário (OREN, 2001). O cloro (Cl<sup>-</sup>) é acumulado através do transporte do tipo simporte com o sódio (Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>) (OREN, 2001). No caso dos microrganismos halofílicos, há uma forte dependência de altas concentrações de sais, pois o proteoma dessas células é altamente ácido, e a maioria das proteínas é desnaturada quando exposta a baixos teores de sal (OREN, 1999; OREN, 2008). Gêneros do domínio Archaea e Bacteria se ajustam osmoticamente com alta concentração intracelular de KCl. Espécies da família Halobacteriaceae (domínio Archaea) e de bactérias anaeróbica da ordem Halanaerobiales utilizam o KCl para promover o ajustamento osmótico em altas concentrações de NaCl do meio externo (OREN, 1999; OREN, 2008).

A segunda estratégia adaptativa dos microrganismos para equilibrar osmoticamente seu citoplasma com o meio externo é baseada na biossíntese e/ou acumulação de solutos osmóticos orgânicos compatíveis. Os sais são excluídos do citoplasma, e solutos orgânicos são sintetizados ou acumulados, aumentando de potencial osmótico dentro do citoplasma para promover o equilíbrio osmótico (OREN, 2001). A biossíntese de solutos orgânicos é energeticamente mais dispendiosa do que a síntese de altas concentrações de KCl (OREN, 2001). A maioria dos solutos compatíveis são aminoácidos e derivados de aminoácidos, açúcares e polióis. A estratégia de exclusão de sais do citoplasma e a acumulação de solutos

orgânicos para alcançar o equilíbrio osmótico é utilizado por microrganismos como algas eucarióticas halofílicas, bactérias halofílicas e halotoletantes, e microrganismos metanogênicos do grupo Archeae (OREN, 2001). As algas eucarióticas e fungos utilizam glicerol e outros polióis como solutos. No domínio Bacteria é encontrada a maior diversidade de solutos orgânicos compatíveis, porém a trimetilglicina e derivados de aminoácidos cíclicos são mais abundantes nesse grupo (OREN, 2001).

## 2.5 Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal em Ambientes Salinos

A maioria dos solos apresentam uma grande diversidade de microrganismos, alguns desses são encontrados em solos não rizosféricos e outros na rizosfera, interagindo com as raízes das plantas (GLICK, 2014). A rizosfera é o volume de solo que está sob a influência das raízes das plantas, onde se encontra o máximo de atividade microbiológica devido a produção de exsudados das raízes que servem de fonte de nutriente para estes microrganismos (NADEEM et al., 2013). Entre as populações de microrganismos presentes na rizosfera, as bactérias são os microrganismos mais abundantes. Vários gêneros, frequentemente encontrados na rizosfera de plantas, causam efeitos pronunciados no crescimento vegetativo e são conhecidas como promotoras de crescimento vegetal, como *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Variovorax*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Azospirillum*, *Serratia* e *Azotobacter* (NADEEM et al., 2013).

Dentre os mecanismos que promovem o crescimento vegetal podemos citar a fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo, produção de sideróforos, reguladores de crescimento, ácidos orgânicos e produção de enzimas como ACC-desaminase e glucanase (BERG, 2009; GLICK et al., 2007; HAYAT et al., 2010). Os fitohormônios regulam as respostas de proteção a planta a estresses bióticos e abióticos, e podem ter um papel importante na tolerância de diversas plantas a condições de estresse, incluindo o estresse salino (RAGHAVAN et al., 2006; RYU; CHO, 2015).

Diferentes trabalhos mostram a importância de bactérias promotoras de crescimento vegetal em ambientes salinos (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Algumas espécies de *Halomonas* são capazes de crescer em concentrações de sais de 1% a 20%. Isolados de *Halomonas maura*, bactéria gram-positiva encontrada em solos salinos, especialmente na rizosfera de plantas xerófitas, foram identificados como capazes de fixar nitrogênio (ARGANDONÁ et al., 2005). Bactérias do gênero *Azospirillum* são promotoras de crescimento vegetal e o gênero apresenta algumas espécies halotolerantes que sobrevivem na rizosfera de plantas de mangue (BASHAN et al., 2000). Esses autores mostraram que a inoculação com isolados halotolerantes de *Azospirillum* pode promover o crescimento da planta de mangue *Salicornia bigelovii*.

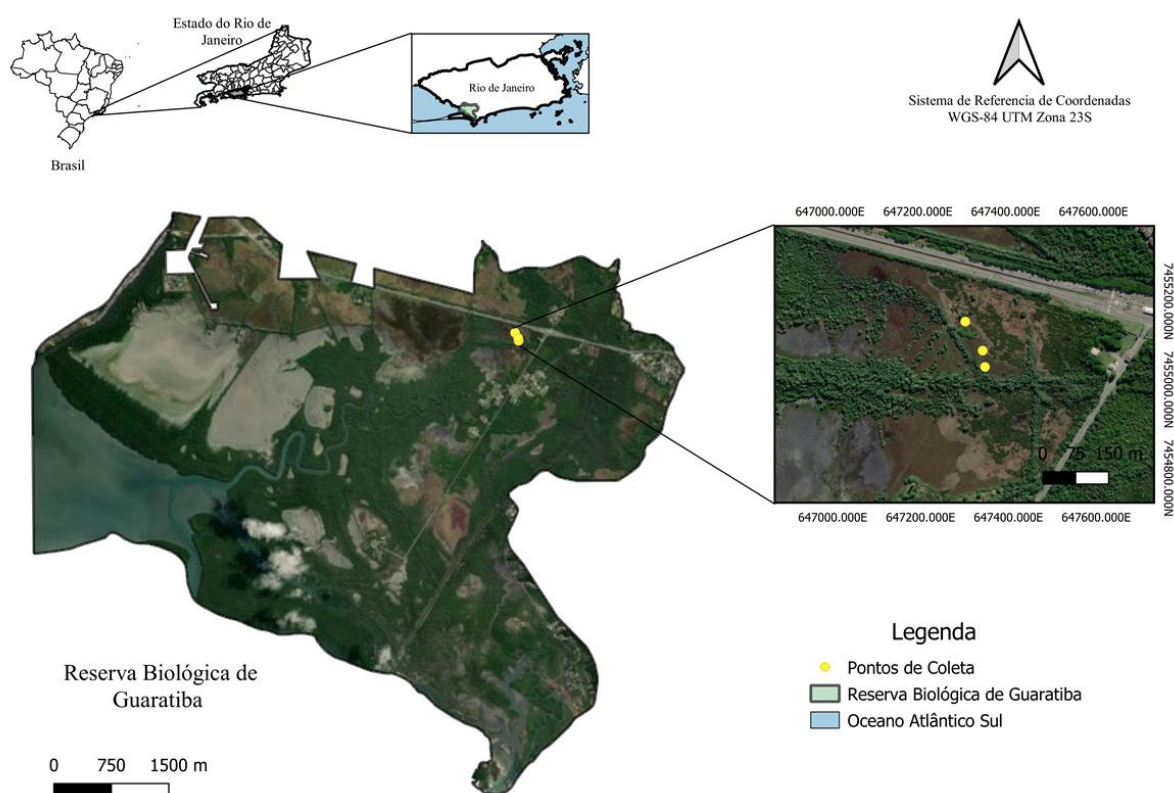
Os benefícios da promoção de crescimento das bactérias halofílicas e halotolerantes não estão limitadas às plantas nativas de ambientes salinos. Essas bactérias também podem aumentar a tolerância à salinidade em plantas com maior sensibilidade e que não apresentam adaptações específicas para sobreviverem as condições salinas. Egamberdieva et al. (2008) isolaram uma grande quantidade de bactérias halotolerantes com propriedade de promover crescimento vegetal da rizosfera de trigo cultivado em condições salinas. As bactérias encontradas foram *Acinetobacter* (duas linhagens), *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter hormaechei*, *Pantoea agglomerans* e *Alcaligenes faecalis*. No semiárido brasileiro foram realizadas pesquisas com plantas halofílicas pioneiras na sucessão ecológica de salinas. As bactérias foram isoladas da rizosfera dessas plantas, e foram encontradas isolados pertencentes às seguintes espécies: *Halomonas aquamarina*, *Brevundimonas vesiculares*, *Enterococcus durans*, *Paenibacillus polymyxa* e *Klebsiella pneumoniae*. (DA SILVA et al., 2011).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Caracterização da Área de Estudo

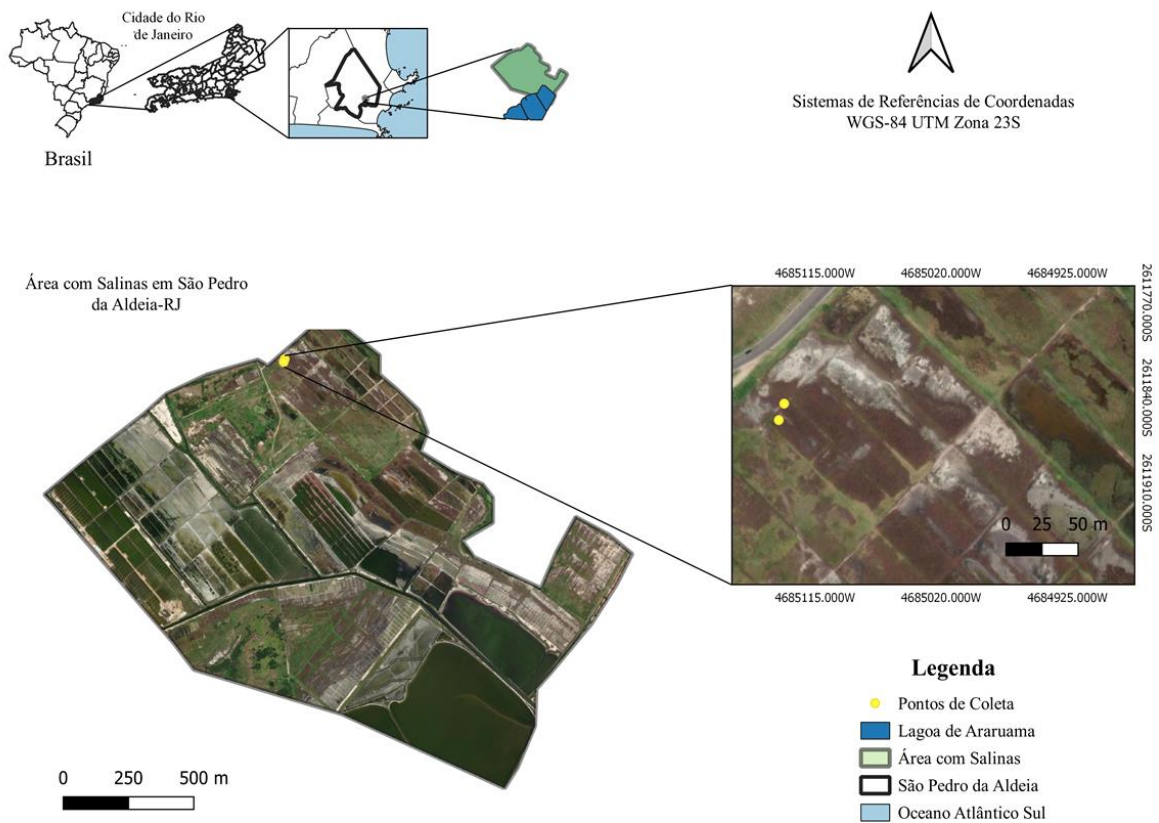
Foram selecionados três solos de ambientes salinos para realização do estudo: planícies hipersalinas (Guaratiba-RJ); salina desativada (São Pedro da Aldeia-RJ) e entorno da lagoa hipersalina (Araruama-RJ).

A área de coleta situada no bairro Guaratiba – RJ integra a Reserva Biológica Estadual da Guaratiba na cidade do Rio de Janeiro (Figura 1). O clima é classificado segundo modelo de Köppen como Amg, tropical chuvoso de bosque. O solo nessa área foi classificado originalmente como Glei pouco Húmico salino solódico (CARVALHO FILHO et al., 2001). Esta área é formada pelo ecossistema mangue, caracterizada por feições chamadas planícies hipersalinas (apicuns). Essas feições são encontradas nas porções mais internas do ecossistema, em que o aporte principal de água é a inundação pelas marés.



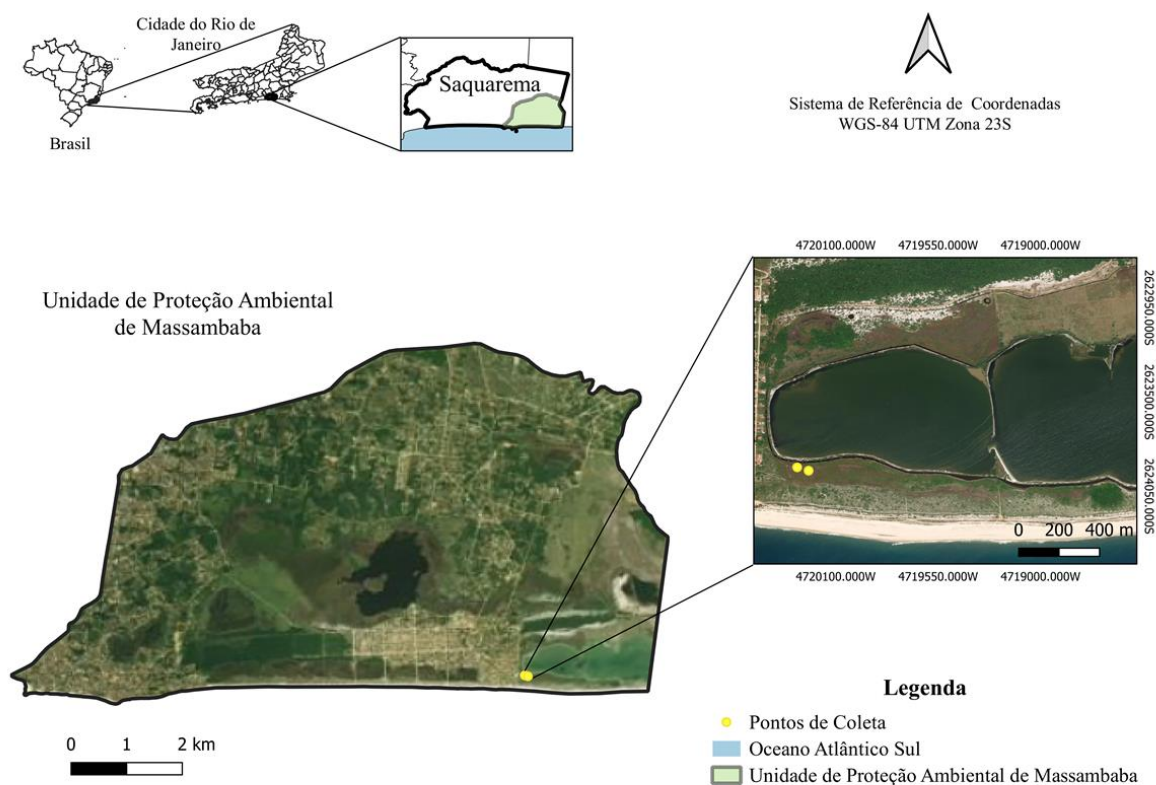
**Figura 1.** Localização e pontos de coleta da planície hipersalina localizada em Guaratiba na cidade do Rio de Janeiro-RJ.

A área de coleta em São Pedro da Aldeia – RJ foi realizada em uma salina desativada, anteriormente utilizada para extração de sal a partir da água do mar (Figura 2). O clima dessa região é classificado como clima tropical com estação seca (Aw). O tipo de terreno nessa área é identificado como salinas (CARVALHO FILHO et al., 2001). Nas salinas, as águas do mar ou de lagoas hipersalinas são bombeadas para reservatórios, e, com o calor dos raios solares, a água evapora e assim ocorre a precipitação do sal, que posteriormente é coletado.



**Figura 2.** Localização e pontos de coleta da salina desativada localizada em São Pedro da Aldeia.

A coleta em Saquarema - RJ foi realizada nos entornos de uma lagoa hipersalina chamada Lagoa Vermelha (Figura 3). A Lagoa Vermelha é um sistema lagunar costeiro situado entre os municípios de Saquarema e Araruama, região dos lagos do estado do Rio de Janeiro. O clima da região é classificado como Aw, de acordo com a classificação de Köppen. Os solos dessa área foram classificados originalmente como Podzólicos hidromorficos distrófico (CARVALHO FILHO et al., 2001). A formação dessas lagoas é estimulada pelo clima desta região, quente e com déficit de precipitação. A hipersalinidade dessas lagoas favorece a precipitação de sais.



**Figura 3.** Localização e pontos de coleta do entorno de lagoa hipersalina chamada Lagoa Vermelha localizada em Saquarema-RJ.

### 3.2 Coleta de Plantas e de Solos

Nas áreas de estudo foram identificadas e coletadas amostras de plantas herbáceas predominantes. As áreas foram percorridas em zig-zag e foram coletadas três amostras aleatoriamente de cada tipo de planta. Em cada ponto de coleta foram determinados o pH, a umidade do solo e a condutividade elétrica com dispositivos portáteis com o intuito de confirmar a salinidade do solo. A coleta do solo e extração do solo rizosférico foram realizados de acordo com McPherson et al. (2018).

O solo foi amostrado com uma pá a uma profundidade de 20 cm cortando as raízes laterais que prendem a planta ao solo, formando uma amostra circular contendo a parte aérea, raízes e solo. As amostras foram colocadas em sacos plásticos e em baldes com identificação. No laboratório, para acessar as raízes, as amostras de solo foram agitadas gentilmente. O solo que se despreendeu foi utilizado para a caracterização química.

As partes aéreas das plantas coletadas foram enviadas para identificação no Herbário do Departamento de Botânica da UFRRJ, registrado no Index Herbariorum com a sigla RBR (Tabela 2).

### 3.3 Caracterização Química do Solo

Foram avaliados os valores de pH, condutividade elétrica do extrato de saturação e determinação dos teores trocáveis de nutrientes.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Al}^{3+}$  foram extraídos com solução de KCl e quantificados via titulação; P,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  foram extraídos com solução Mehlich 1,

sendo quantificados por colorimetria (P) e fotometria de emissão de chamadas ( $K^+$  e  $Na^+$ ); carbono orgânico foi determinado por oxidação a quente com dicromato de potássio e titulação com sulfato ferroso amoniacal, segundo; H+Al foram avaliados através de solução de acetato de cálcio  $0,025 \text{ mol L}^{-1}$ , a determinação do pH do solo em água e o cálculo da CTC, foram realizados conforme descrito pelo método da Embrapa (TEIXEIRA et al., 2017).

### 3.4 Extração de Solo Rizoférico

Para a coleta do solo rizoférico, aproximadamente de 10 a 15 fragmentos de raízes de cada planta foram seccionadas utilizando uma tesoura esterilizada com álcool 70%. As raízes foram colocadas em tubo tipo Falcon contendo 35 mL de solução salina ( $9 \text{ g.L}^{-1}$  de NaCl). Para liberar o solo rizoférico da superfície das raízes, os tubos foram agitados no aparelho Vortex a 300 rotações por minuto (rpm) por dois minutos. As raízes foram removidas do tubo com o auxílio de uma pinça esterilizada com álcool 70%.

### 3.5 Isolamento de Bactérias Rizoféricas

A partir dos tubos contendo a suspensão rizoférica, uma alíquota de 1 mL foi adicionada em 9 mL de solução salina ( $9 \text{ g.L}^{-1}$  de NaCl). Esta nova suspensão foi diluída em série de  $10^{-1}$  a  $10^{-12}$ . Uma alíquota de 0,1 mL de cada uma das diluições foi inoculada nos meios de cultura. Nas amostras provenientes da área em Guaratiba foram utilizados os meios TSA (triptona  $15,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; digestão papaica de soja  $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; cloreto de soja  $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; ágar  $15,0 \text{ g.L}^{-1}$ ), ágar nutriente (extrato de carne  $1 \text{ g.L}^{-1}$ ; extrato de levedura  $2,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; peptona  $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; cloreto de sódio  $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; ágar  $15,0 \text{ g.L}^{-1}$ ), ágar sabouraud (dextrose  $40,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; digestão peptídica de tecido animal  $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; digestão pancreática de caseína  $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; ágar  $15,0 \text{ g.L}^{-1}$ ) e ágar batata dextrose (dextrose  $20,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; infusão a partir de batatas  $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; ágar  $15,0 \text{ g.L}^{-1}$ ) acrescidos de 1%, 5%, 15% e 25% de NaCl. Para as concentrações 1% e 5% de NaCl foram utilizadas as diluições  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$  e  $10^{-12}$ ; e para as concentrações 15% e 25% foram utilizadas as diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Para as amostras provenientes das áreas em São Pedro da Aldeia e Saquarema foram utilizados os meios Ágar nutriente e ágar batata dextrose acrescidos de 1%, 5%, 15% e 20% de NaCl. Para as concentrações 1% e 5% de NaCl foram utilizadas as diluições  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$  e  $10^{-12}$ ; e para as concentrações 15% e 25% foram utilizadas as diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ .

As placas foram mantidas em estufa a  $30^\circ\text{C}$  por 10 dias. As colônias foram selecionadas e purificadas três vezes para a obtenção de isolados puros, os quais foram estocados em meio ágar estoque (ágar nutriente  $28 \text{ g.L}^{-1}$ ; fosfato diabásico  $2 \text{ g.L}^{-1}$ ) a  $5^\circ\text{C}$ .

### 3.6 Teste de Salinidade e Classificação dos Isolados

Uma colônia de cada isolado foi retirada com a alça de platina e foi semeada por estrias simples em placas contendo meio ágar nutriente (extrato de carne  $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; extrato de levedura  $2,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; peptona  $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; cloreto de sódio  $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ ; ágar  $15,0 \text{ g.L}^{-1}$ ) acrescidos de 0,5%; 5%; 10%; 15%; 20%; 25% de NaCl. As placas foram mantidas em estufa à  $30^\circ\text{C}$ . As placas foram analisadas por um período de 10 dias após a inoculação. O intervalo de crescimento foi determinado a partir das concentrações de NaCl em que ocorreu o crescimento do isolado. Os isolados foram classificados de acordo com a resposta a salinidade em não halofílicos, halotolerantes, halofílicos fracos, halofílicos moderados e halofílicos extremos, com base na Tabela 1.



**Tabela 1.** Classificação dos microrganismos de acordo com a resposta à salinidade

Classe	Concentração ótima de sal
<b>Não halofílico</b>	≤ 1% NaCl
<b>Halotolerante</b>	0,5% - 20% NaCl
<b>Halofílico fraco</b>	1% - 5% NaCl
<b>Halofílico moderado</b>	5% - 20% NaCl
<b>Halofílico extremo</b>	≥ 20% NaCl

Classificação de acordo com Amoozegar et al. (2019) e Singh et al. (2019).

### **3.7 Identificação de Bactérias Pela Técnica Proteômica MALDI TOF-MS (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight/ Mass Spectrometry*)**

As bactérias isoladas foram identificadas através de técnica proteômica MALDI TOF-MS, que foi realizada através de uma parceria com o Laboratório de Química de Proteínas da Escola Paulista de Medicina (UNIFESP). Os isolados foram cultivados 30°C por 48 h em ágar nutriente acrescido de NaCl na concentração ótima para cada isolado.

Primeiramente, todos os isolados foram identificados pelo método direto. Para isso, uma colônia dos isolado bacteriano foram transferidas para os poços de uma microplaca (96 MSP, Bruker-Billerica, E.U.A) e, ao sedimento bacteriano, foi adicionado uma solução de lise (ácido fórmico 70% Sigma-Aldrich) em quantidade suficiente para cobri-lo. Em seguida, 1 µL de solução da matriz (ácido alfa-ciano-4-hidroxi-cinâmico diluído em acetonitrila 50% e ácido trifluoracético 2,5%, Sigma-Aldrich) foi utilizado para cobrir o extrato bacteriano.

Os isolados que não foram identificados pelo método direto, foram analisados pelo método de extração de proteínas. Os isolados foram cultivados em ágar nutriente acrescido da concentração ótima de NaCl correspondente da amostra, e foram incubados a 30°C por 48 h. Uma colônia de cada isolado foi ressuspensa em 300 uL de água deionizada e foi adicionado 900 uL de etanol absoluto. As suspensões foram homogeneizadas em vórtex e centrifugadas por 3 min a 8.609g. Os sobrenadantes foram descartados e os precipitados foram secos ao ar e, em seguida, dissolvidos em 50 uL de ácido fórmico 70% e homogeneizados em vórtex. Após a adição de 50 uL de acetonitrila, as amostras foram homogeneizadas manualmente. Estas suspensões foram centrifugadas por 3 min a 8.609g, e alíquotas de 1 uL dos sobrenadantes foram transferidas para os poços de uma microplaca de aço, sendo as amostras secas ao ar a temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se a cada poço 1 uL de matriz (ácido alfa-ciano-4-hidroxi-cinâmico diluído em acetonitrila 50% e ácido trifluoracético 2,5%, Sigma-Aldrich) para cobrir a amostra de extrato de proteínas.

O instrumento Microflex LT<sup>TM</sup> (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) foi utilizado com o *software* Flex Control<sup>TM</sup> versão 3.4 (Bruker Daltonics). Para calibração de massa e otimização de parâmetros de instrumentos, o padrão de teste bacteriano (BTS, Bruker Daltonics) foi usado. As aquisições foram feitas no modo linear positivo dentro de uma faixa de massa de 2.000 a 20.000 m. z<sup>-1</sup> com as configurações sugeridas pelo fabricante no modo de coleta automática de espectros. Todos os espectros foram analisados pelo algoritmo de correspondência de padrão utilizando o *software* MALDI Biotyper<sup>TM</sup> 3.1 (Bruker Daltonics), e os espectros brutos das amostras foram comparados com os espectros de referência da biblioteca Bruker (banco de dados versão 3.3.1, 5.627 espectros de referência) com configurações padrões.

O critério utilizado para os valores de score de identificação é baseado no indicado pelo fabricante: um score ≥ 2.300 indica a identificação altamente provável a nível de espécie, um score 2.000 a 2.299 indica identificação a nível de gênero e provável espécie, um score entre

1.700 e 1.900 indica provável identificação a nível de gênero e um score < 1.700 indica nenhuma identificação.

### 3.8 Identificação Genotípica de Bactérias

#### 3.8.1 Extração de DNA

Para extração de DNA, os isolados foram cultivados em 5 mL do meio de cultura líquido BHI (Brain Heart Infusion) à temperatura ambiente em uma mesa agitadora a 150 rpm de rotação. Após 16 horas, alíquotas de 1,5 mL de cada cultura foram transferidas para microtubos e centrifugados a 16.873g por 1 min, para sedimentar as células (HE, 2011). O processo de sedimentação das células foi repetido por três vezes para concentrar o maior número de células possível. Após o descarte do sobrenadante, o precipitado foi ressuscitado em 600 µL de tampão de lise (TE buffer 1X, SDS 10% e NaCl 25 mM) com ajuda de um agitador de bancada tipo *vórtex* e incubado a 60 °C por 30 min (TITO et al., 2015). Após esfriar a temperatura ambiente, foram adicionados 600 µL de clorofórmio e álcool isoamílico (proporção 24:1 v/v). Em seguida, as amostras foram homogeneizadas por 2 min, e centrifugadas a 14.549 g por 10 min. Volumes de 600 µL do sobrenadante de cada amostra foram transferidos para novos microtubos para adição de igual volume de clorofórmio e álcool isoamílico. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 14.549g por 10 min e volumes de aproximadamente 400 µL do sobrenadante foram transferidos para novos microtubos contendo o mesmo volume de isopropanol gelado. As amostras foram incubadas a -20°C, para precipitação do DNA, e após 12 horas foram centrifugadas a 14.549g por 30 min. O precipitado foi lavado com 200 µL de etanol 70% por duas vezes e após secar a temperatura ambiente, foi ressuscitado em 30 µL de água ultrapura.

#### 3.8.2 Amplificação e sequenciamento do gene *rrs*

O gene *rrs* que codifica o rRNA 16S foi amplificado através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR – *Polymerase chain Reaction*), utilizando os *primers* universais 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' com o *primer* 1492R 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3;' e 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' com o *primer* 1512R 5'-ACGGCTACCTTGTACGACT-3'. As reações de PCR foram conduzidas em volumes de 25 uL contendo os seguintes reagentes: tampão de reação (1X), Taq DNA polimerase (1 U), MgCl<sub>2</sub> (2,5 mM), 0,2 mM de dNTP e 0,4 µM de cada *primer*. A reação foi realizada em um termociclador, com uma etapa inicial de desnaturação a 94°C por 5 min; seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 s, anelamento a 56°C por 40 s; e extensão a 72°C por 1 min e 30 s; e uma etapa de extensão final a 72°C por 7 min (WEISBURG et al., 1991). Os produtos das reações de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, corados com Syber Green e visualizados sob a luz ultravioleta usando o sistema de fotodocumentação L-PIX EX (Loccus Biotecnologia).

Os produtos de PCR foram purificados utilizando a Exo-Sap (USB Corporation, Cleveland, Ohio), conforme recomendação do fabricante. Os produtos de PCR purificados foram sequenciados utilizando BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. A reação foi realizada em um termociclador, com inicial de desnaturação a 94°C por 1 min; seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 15 s, anelamento a 56°C por 15 s; e extensão a 72°C por 4 min. A purificação das amostras foi feita por precipitação com acetato de sódio 3M, EDTA 125 mM e etanol 70%. O sequenciamento das amostras foi realizado na EMBRAPA Agrobiologia no equipamento 3500 Genetic Analyser (Applied Biosystems®).



As seqüências foram editadas utilizando o programa DNA Sequence Assembler v4 (2013), e foram comparadas com seqüências depositadas no banco de dados do NCBI utilizando o algoritmo BLASTn (ALTSCHUL et al., 1997).

### **3.9 Bioprospecção de Bactérias Halotolerantes Promotoras de Crescimento Vegetal**

#### **3.9.1 Análise da germinação do arroz em diferentes concentrações de sal**

A desinfecção superficial das sementes de arroz BRS Esmeralda foi realizada por imersão em hipoclorito de sódio a 2,5% por 3 min, e posterior lavagem por três vezes com água esteril. Em placas de petri contendo papel filtro autoclavado foram adicionados 5 mL de água destilada contendo 0 mM, 50 mM; 100 mM; 200 mM e 300 mM de NaCl. Um total de 20 sementes foram transferidas para cada placa de petri e estas foram incubadas a 28°C por 5 dias. Foram utilizadas 4 repetições de 20 sementes para cada tratamento. A germinação foi analisada diariamente e no final do experimento o comprimento da parte aérea e raiz das plântulas foram medidos manualmente utilizando uma régua.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

#### **3.9.2 Potencial dos isolados bacterianos halotolerantes na redução do estresse salino do arroz**

A desinfecção superficial das sementes de arroz BRS Esmeralda foi realizada com hipoclorito de sódio a 2,5% por 3 min, e posterior lavagem por três vezes com água. As bactérias foram cultivadas em caldo BHI por 24 h a 150 rpm. A suspensão bactéria foi ajustada para concentração de  $10^6 - 10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup> com meio de cultura. As sementes foram incubadas na suspensão bacteriana por 1 h. Em placas de petri contendo papel filtro autoclavado foram adicionados 5 mL de água destilada contendo 50 mM e 200 mM de NaCl. O total de 20 sementes inoculadas foram transferidas para cada placa de petri e incubadas a 28°C por 5 dias. Foram utilizadas 4 repetições de 20 sementes para casa tratamento.

A germinação foi analisada diariamente e no final do experimento foram analisados os parâmetros morfológicos da parte aérea e raiz das plântulas por meios de imagens utilizando o software *WinRHIZO* Arabidopsis (2012b). As raízes e parte aérea foram espalhadas em uma cuba contendo água destilada e escaneadas utilizando o *scanner* Epson Expression 10000XL (Epson, Toronto, Canadá), as imagens foram analisadas utilizando o software *WinRHIZO* Arabidopsis (2012b) na definição de 600 dpi. Foram determinados os seguintes parâmetros: comprimento total das raízes (cm), volume radicular (cm<sup>3</sup>), superfície radicular (cm<sup>2</sup>) e número de pontas. Para a parte aérea foi determinado o comprimento total (cm).

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Identificação de Plantas Halófitas e Caracterização Química do Solo

Diferentes gêneros e espécies de plantas foram encontradas nas três áreas analisadas. Nas áreas das planícies hipersalinas em Guaratiba foram encontradas densas e esparsas populações de plantas pertencentes a espécie *Salicornia gaudichadiana*. Nas salinas desativas em São Pedro da Aldeia foram encontradas duas espécies de plantas herbáceas halófitas, identificadas como *Salicornia fruticosa* e *Blutaparon portulacoides*. Nos entornos da lagoa hipersalina em Araruama foram encontradas duas espécies vegetais predominantes, identificadas como *Sporobolus virginicus* e *Cyperus ligularis* (Tabela 2 e Figura 4).

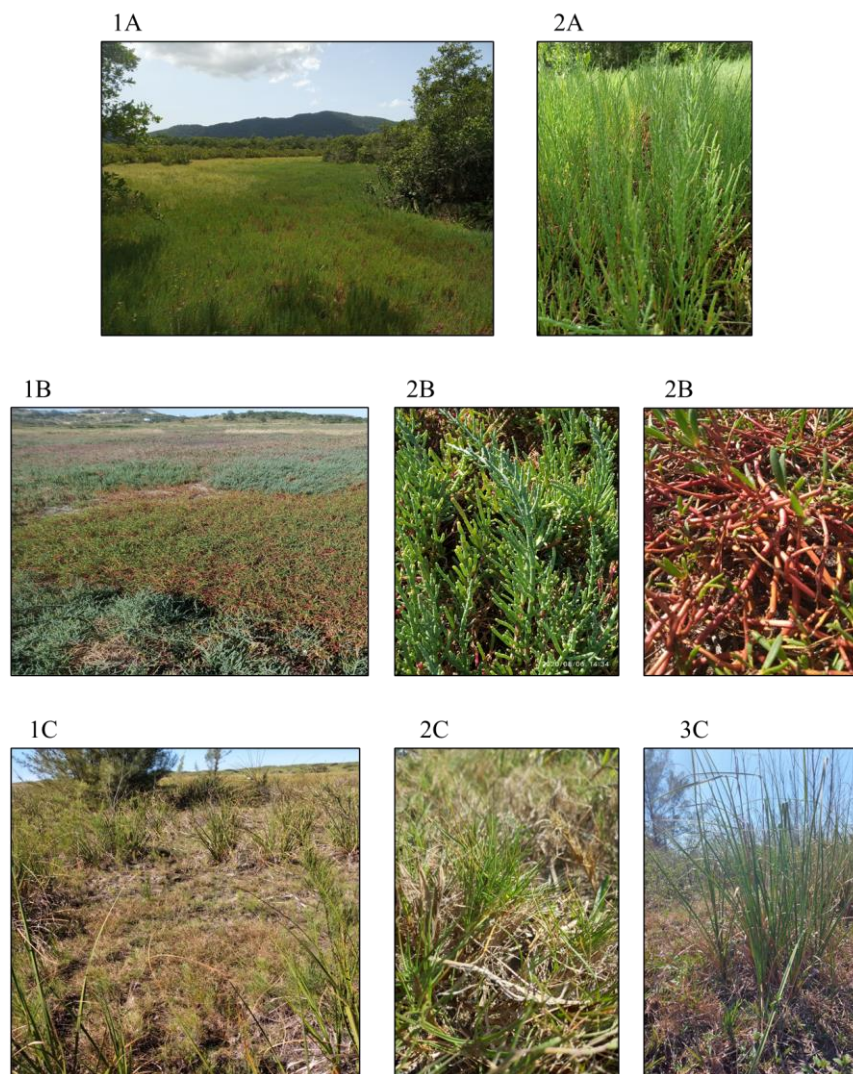
**Tabela 2.** Identificação das espécies vegetais herbáceas predominantes nas áreas de estudo

Registro herbário	Espécie vegetal	Família botânica	Hábito	Ambiente	Local
RBR 46532	<i>Salicornia gaudichadiana</i>	Amaranthaceae	Herbácea	Planícies hipersalinas	Guaratiba-RJ
RBR 55054	<i>Salicornia fruticosa</i>	Amaranthaceae	Herbácea	Salina desativada	São Pedro da Aldeia-RJ
RBR 55053	<i>Blutaparon portulacoides</i>	Amaranthaceae	Herbácea	Salina desativada	São Pedro da Aldeia-RJ
RBR 55055	<i>Sporobolus virginicus</i>	Poaceae	Herbácea	Lagoa hipersalina	Squarema-RJ
RBR 55056	<i>Cyperus ligularis</i>	Cyperaceae	Herbácea	Lagoa hipersalina	Squarema-RJ

Em comparação aos demais solos analisados, o solo presente nas planícies hipersalinas apresenta maior condutividade elétrica e maior conteúdo de cátions  $\text{Na}^+$ . A alta concentração de sódio desse solo reflete no maior valor de porcentagem de sódio trocável (PST) (Tabela 3). Os solos presentes nas salinas desativadas apresentaram o segundo maior valor de condutividade elétrica, porém entre os solos há diferenças na quantidade de íons. O solo populado pela planta *Salicornia fruticosa* apresenta maior quantidade de  $\text{Na}^+$  do que o solo populado pela planta *Blutaparon portulacoides* (Tabela 3). Os solos do entorno da lagoa hipersalina apresentam menores valores de condutividade elétrica, entre os solos analisados houve diferenças na quantidade de íons. No solo populado pela planta *Sporobolus virginicus* há maior quantidade de  $\text{Na}^+$  do que o solo populado pela planta *Cyperus ligularis*, este solo apresenta menor condutividade elétrica dentre todos analisados (Tabela 3).

Em relação ao pH, observa-se que os solos das salinas desativadas e lagoa hipersalinas apresentam valores mais altos indicando que estes solos são alcalinos. Em contraste, o solo presente nas planícies hipersalinas apresenta altos valores de acidez ( $\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}$ ) corroborando com o pH ácido (Tabela 3). Dependendo da região, os apicuns apresentam variações em relação a vegetação, e/ou a quantidade de enxofre e acidificação no horizonte superficial (HADLICH; UCHA, 2009). As planícies hipersalinas (apicuns) apresentam regime de alagamento caracterizado pela saturação e posteriormente condições de hidromorfismo. Em resposta ao alagamento, os solos dessas áreas são propensos a decomposição anaeróbica da matéria orgânica. Essas condições redutoras promovem o processo pedogenético de gleização, que confere ao solo cores acinzentadas a neutras devido a redução do  $\text{Fe}^{3+}$  (ALBUQUERQUE et al., 2014). Após o processo de redução, a decomposição da matéria ocorre via redução de

sulfatos que resulta na formação de metais de sulfetos como a pirita. Esses metais são instáveis em condições aeróbicas, sendo oxidados liberando prótons  $H^+$ . O processo de oxidação de sulfetos é responsável pela diminuição do pH desses solos (ALBUQUERQUE et al., 2014). Dessa forma, é possível que o processo de redução de sulfatos e oxidação de sulfetos sejam responsáveis pela diminuição do pH no solo presente na planície hipersalina em Guaratiba – RJ.



**Figura 4.** Áreas das coletas e espécies vegetais presentes. 1A – Planícies hipersalinas de Guaratiba; 2A - *Salicornia gaudichadiana*; 1B – Salina desativada de São Pedro da Aldeia; 2B – *Salicornia fruticosa*; 3B – *Blutaparon portulacoides*; 1C – Entorno de lagoa hipersalina de Saquarema; 2C – *Sporobolus virginicus*; 3C - *Cyperus ligularis*.

Todos os solos apresentaram alta condutividade elétrica (CE) e percentual de sódio trocável (PST) devido às altas concentrações de íons presentes nestes ambientes. De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos, pode-se atribuir caráter sálico aos solos, se estes apresentam  $CE > 7 \text{ mS.cm}^{-1}$  e caráter sódico, se estes apresentam  $PST > 15\%$ . A partir desses atributos, os solos das três áreas estudadas podem ser caracterizados como salinos-sódicos pois apresentam condutividade elétrica maior que  $7 \text{ mS.cm}^{-1}$  e porcentagem de sódio maior que 15%.

**Tabela 3.** Atributos químicos dos solos das planícies hipersalinas de Guaratiba, salinas desativadas de São Pedro da Aldeia e entorno da lagoa hipersalina de Araruama

Área	Planta	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	H+Al	Al <sup>3+</sup>	pH água	PST*	CE	Caráter**
		----- Cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> -----						1:2,5	%	mS.cm <sup>-1</sup>	
<b>Planícies hipersalinas - Guaratiba</b>	<i>Salicornia gaudichadiana</i>	42,89	4,96	14,61	0,85	19,85	0,25	4,72	51	95,97	Salino-sódico
<b>Salina desativada - São Pedro da Aldeia</b>	<i>Salicornia fruticosa</i>	23,56	21,02	11,55	1,57	0	0,01	7,97	41	63,6	Salino-sódico
	<i>Blutaparon portulacoides</i>	11,63	5,77	5,86	0,76	0,28	0,01	7,78	48	61,6	Salino-sódico
<b>Lagoa hipersalina- Araruama</b>	<i>Sporobolus virginicus</i>	10,5	5,03	5,81	0,43	0,13	0,01	8,32	48	33,4	Salino-sódico
	<i>Cyperus ligularis</i>	5,97	6,22	4,63	0,35	0	0,01	8,45	35	18,8	Salino-sódico

\*Porcentagem de sódio trocável; \*\*De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos (SANTOS et al., 2018).

Os ambientes salinos podem ser originados da água do mar e possuem natureza química relacionada ao ambiente marinho. Estes ambientes podem ser caracterizados pela predominância de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , e outros íons como  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , e  $\text{F}^-$  (VENTOSA; ARAHAL, 2009). Todas as áreas de coleta estão situadas em regiões costeiras do estado Rio de Janeiro, e a proximidade com a água salina marinha confere à estas áreas maiores teores de íons, com predominância de íons  $\text{Na}^+$ . Outros íons importantes que podem ser observados em altas concentrações são  $\text{Mg}^{+2}$  e o  $\text{Ca}^{+2}$  (Tabela 3).

Os solos das áreas populadas pelas plantas halófitas *Salicornia gaudichadiana*, *Salicornia fruticosa* e *Blutaparon portulacoides* apresentaram maiores valores de condutividade elétrica. Essas três espécies de plantas são classificadas como halófitas dicotiledôneas e pertencem à família Amaranthaceae. Essas plantas são altamente adaptadas a alta salinidade, em que há grande acúmulo de íons nos tecidos, demonstrado pela morfologia foliar suculenta (FLOWERS et al., 2015).

Os solos provenientes da área populada pelas plantas halófitas *Sporobolus virginicus* e *Cyperus ligularis* apresentaram menores quantidades de íons de sódio e menores valores de condutividade elétrica em comparação às áreas de planícies hipersalinas e uma área das salinas desativadas. Estas duas espécies são classificadas como halófitas monocotiledôneas, pertencentes às famílias Poaceae e Cyperaceae, respectivamente. São plantas que apresentam quantidades de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  consideravelmente menores nos vacúolos do que membros da família Amaranthaceae, e geralmente utilizam açúcares como osmólitos compatíveis para aumentar a osmolaridade celular (FLOWERS; COLMER, 2008).

Sugere-se que as diferenças dos atributos químicos destes solos, especialmente a concentração de sódio, são fatores preponderantes na seleção destas plantas. As características das plantas corroboram com as características químicas dos solos em que foram coletadas. A alta salinidade e alta concentração de sódio presente nos solos selecionaram espécies vegetais halófitas, uma vez que plantas glicófitas são afetadas pelo estresse salino limitando seu crescimento em solos afetados por sais.

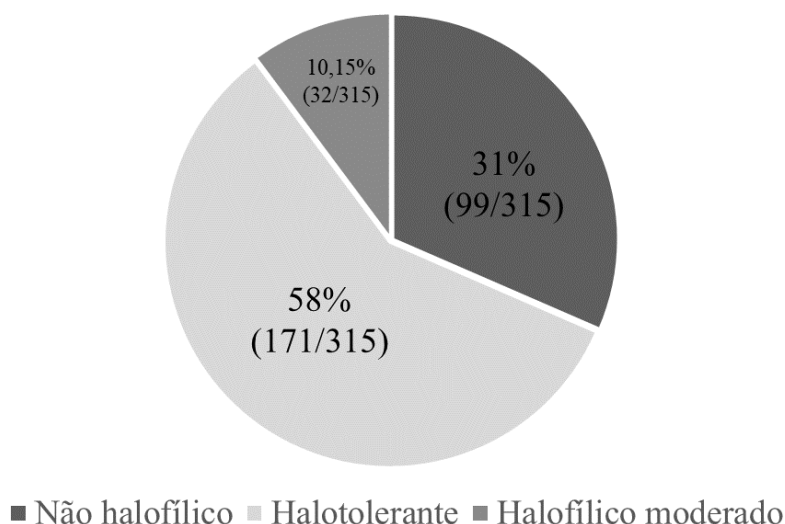
#### **4.2 Isolamento de Bactérias Rizosféricas e Classificação Quanto a Salinidade**

Foram isoladas um total de 315 bactérias da rizosfera das plantas halófitas, sendo 58,4% (184/315) em meios contendo 1% de NaCl, 26,6% (84/315) em meios contendo 5% de NaCl, 13,3% (42/315) em meios contendo 15% de NaCl e 1,9% (5/315) em meios contendo 20% de NaCl.

De acordo com o teste de salinidade realizado, as estirpes bacterianas foram classificadas quanto a resposta à salinidade em quatro grupos: não halofílico, halotolerante e halofílico moderado (Figura 5). Não foram isolados microrganismos halofílicos extremos. As bactérias classificadas como não halofílicas representaram 31% do total de isolados. A maioria dos isolados foram classificados como halotolerantes e a, minoria foram classificadas como halofílicas moderadas. Os isolados bacterianos halotolerantes apresentam crescimento em uma ampla faixa de concentrações de NaCl, podendo tolerar altas concentrações de NaCl. A maior parte dessas estirpes bacterianas halotolerantes apresentaram crescimento ótimo em meios com concentração de 0,5% de NaCl, considerada um valor adequado para o crescimento de bactérias não halofílicas.

Estudos descrevem que em solos salinos e hipersalinos foram isolados em grande parte microrganismos halotolerantes e halofílicos moderados, principalmente bactérias heterotróficas. Em menor proporção, há relatos do isolamento de microrganismos halofílicos extremos como membros do domínio Archaea (MUKHTAR et al., 2020; VENTOSA et al., 2008). A menor taxa de isolamento de arqueas halofílicas podem ser dificultadas pelas técnicas

e tempo de cultivo (VENTOSA et al., 2008). Estudos utilizando técnicas independentes de cultivo demonstraram que há uma alta diversidade de arqueas em solos e sedimentos salinos, porém a diversidade e mortalidade desses microrganismos variam com a concentração de sais no solo, quando a concentração de sal no solo é reduzida é provável que a taxa de mortalidade da comunidade microrganismos extremos especializados aumente (VENTOSA et al., 2008).



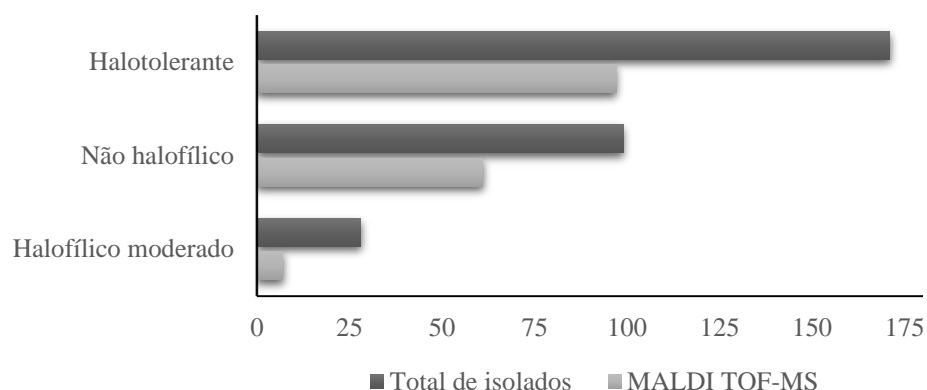
**Figura 5.** Classificação quanto a salinidade dos isolados bacterianos.

O solo é um ambiente em que a salinidade varia no tempo e no espaço (QUESADA et al., 1982; VENTOSA et al., 2008). A heterogeneidade do solo pode favorecer a seleção de organismos halotolerantes, uma vez que são capazes de adaptarem a periodicidade da condição salina presente nesses ambientes. Por outro lado, esta variabilidade em relação a salinidade pode desfavorecer a presença de organismos especializados como os halofílicos extremos, o que pode justificar a menor recuperação de bactérias halofílicas nas áreas estudadas.

### 4.3 Identificação de Bactérias Rizosféricas

Visto o grande número de isolados obtidos, avaliou-se a técnica MALDI-TOF MS como uma ferramenta para facilitar a caracterização e classificação inicial dos isolados. Das bactérias isoladas, foram possíveis analisar pela técnica proteômica MALDI-TOF MS o total de 286 isolados (Figura 6).

De forma geral, pouco mais da metade dos isolados foram identificados pela técnica MALDI TOF-MS em nível confiável de gênero. Estes resultados indicam que esta técnica pode ser uma ferramenta promissora em estudos ambientais que apresentam grande número de amostras reduzindo o tempo e custo para identificação das bactérias em comparação aos métodos genotípicos e bioquímicos, visto que é uma técnica considerada rápida, sensível e econômica em relação aos custos e trabalhos laboratoriais (SHIH et al., 2015). No entanto, não foi possível identificar 42% das bactérias isoladas por este método, e esta alta taxa de isolados não identificados pode ser atribuída a falta de espectros de referência no banco de dados utilizado para processar as amostras. Em geral, a técnica proteômica é muito aplicada na identificação de isolados clínicos, e há poucos relatos de estudos envolvendo a identificação e inserção de espectros nos bancos de dados de amostras ambientais e rizosféricas (HUSCHEK; WITZEL, 2019; RAHI et al., 2016).



**Figura 6.** Total de bactérias isoladas e total de bactérias identificadas pela técnica proteômica MALDI TOF-MS de acordo com a classificação quanto a tolerância à salinidade.

Os isolados classificados como não halofílicos apresentaram maior taxa de identificação em comparação aos halotolerantes e halofílicos, e foi observada uma diminuição acentuada da taxa de identificação em isolados classificados como halofílicos moderados (Figura 2). O MALDI TOF-MS já foi utilizado para identificação de isolados bacterianos provenientes de ambientes salinos (MUNOZ et al., 2011; UHLIK et al., 2011; CALZADA et al., 2017), porém não há relatos do uso da técnica para a identificação de bactérias da rizosfera de plantas halófitas, dificultando a implementação do banco de dados e posterior identificação.

Os gêneros identificados mais abundantes foram *Pseudomonas* (35 isolados), *Ochrobactrum* (32 isolados), *Bacillus* (26 isolados), *Enterobacter* (14 isolados), *Glutamicibacter* (12 isolados), *Stenotrophomonas* (12 isolados) e *Staphylococcus* (11 isolados). (Tabela 4). Os gêneros identificados são encontrados ubiquamente no ambiente, e podem ser isolados de diversos tipos de amostras como solos, água, planta, alimentos e animais. No entanto, todos os gêneros são relatados em amostras clínicas apresentando potencial de causar infecções oportunistas em seres humanos (SANTOS et al., 2020; RYAN; PEMBROKE, 2020; DAVIN-REGLI et al., 2019; RAVINE, 2019; RIVERO et al., 2019; DENET et al., 2018; KANDI et al., 2016; LEROY et al., 2016; WEIHUI et al., 2016; HRENOVIC et al., 2014; KIM et al., 2014; EKKELENKAMP et al., 2010). Dessa forma, é provável que devido as características patogênicas relacionadas a estes gêneros, o perfil espectral dessas bactérias já se encontrava no banco de dados do MALDI TOF-MS facilitando a identificação destes isolados pela técnica proteômica.

Dentre as bactérias não identificadas pela técnica MALDI TOF-MS foram selecionados 22 isolados halotolerantes e 21 halofílicos moderados para a identificação por sequenciamento do gene *rrs*, que codifica o rRNA 16S. A inferência do gênero foi possível em 97,7% (42/43) dos isolados, 22 isolados halotolerantes e 20 isolados halofílicos moderados (Tabela 5 e 6).

Dentre os 43 isolados halotolerantes e halofílicos identificados pelo sequenciamento do gene *rrs*, os gêneros identificados foram *Staphylococcus* (10 isolados), *Halomonas* (6 isolados), *Bacillus* (5 isolados), *Salinicola* (5 isolados), *Kushneria* (5 isolados), *Halobacillus* (2 isolados), *Stenotrophomonas* (2 isolados), *Brevibacterium* (1 isolado), *Bordetella* (1 isolado), *Brevundimonas* (1 isolado), *Kocuria* (1 isolado), *Oceanobacillus* (1 isolado), *Pseudomonas* (1 isolado), *Ochrobactrum* (1 isolado), *Virgibacillus* (1 isolado). Os gêneros *Salinicola*, *Kushneria*, *Halobacillus*, *Brevibacterium*, *Bordetella*, *Brevundimonas*, *Oceanobacillus* e *Virgibacillus* não tinham sido identificados pelo método MALDI TOF-MS.

**Tabela 4.** Gêneros e espécies identificados pela técnica proteômica MALDI TOF-MS

<b>Classificação</b>	<b>Gêneros</b>	<b>Prováveis espécies</b>	<b>Número de isolados</b>
Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>	<i>O. intermedium</i>	20
		<i>B. cereus</i>	8
	<i>Bacillus</i>	<i>B. infantis</i>	1
		<i>B. megaterium</i>	2
	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>	9
	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>S. maltophilia</i>	9
	<i>Acinetobacter</i>	<i>A. baumannii</i>	4
	<i>Escherichia</i>	<i>E. hermannii</i>	3
	<i>Alcaligenes</i>	<i>A. faecalis</i>	1
	<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i>	1
	<i>Lysinibacillus</i>	<i>L. fusiformis</i>	1
	<i>Micrococcus</i>	<i>M. luteus</i>	1
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. hominis</i>	1	
<b>Total</b>			<b>61</b>
Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>	25
	<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i>	13
		<i>B. flexus</i>	1
	<i>Bacillus</i>	<i>B. megaterium</i>	1
		<i>B. cereus</i>	8
		<i>B. subtilis</i>	2
	<i>Ochrobactrum</i>	<i>O. intermedium</i>	12
	<i>Glutamicibacter</i>	<i>G. creatinolyticus</i>	12
		<i>S. epidermidis</i>	2
	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. hominis</i>	1
		<i>S. xylosus</i>	7
	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>S. maltophilia</i>	3
	<i>Alcaligenes</i>	<i>A. faecalis</i>	3
	<i>Escherichia</i>	<i>E. hermannii</i>	2
	<i>Kocuria</i>	<i>K. marina</i>	1
		<i>K. palustris</i>	1
	<i>Acinetobacter</i>	<i>A. baumannii</i>	1
	<i>Cellulosimicrobium</i>	<i>C. cellulans</i>	1
<i>Micrococcus</i>	<i>M. luteus</i>	1	
<b>Total</b>			<b>97</b>
Halofílico moderado	<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i>	2
		<i>B. subtilis</i>	1
	<i>Halomonas</i>	<i>H. halmophila</i>	2
	<i>Paenibacillus</i>	<i>Paenibacillus sp.</i>	1
	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>	1
<b>Total</b>			<b>7</b>



**Tabela 5.** Identificação dos isolados halotolerantes baseada no sequenciamento do gene *rrs*

<b>Isolado</b>	<b>Tamanho do fragmento (pb)</b>	<b>Maior similaridade no Blastn</b>	<b>Código NCBI</b>	<b>Identidade da sequência (%)</b>	<b>E-value</b>
<b>146</b>	1.363	<i>Bacillus cereus</i>	MN647519	97,79%	0
<b>226</b>	1.514	<i>Bacillus haynesii</i>	MT538499	94,78%	0
<b>145</b>	721	<i>Bacillus licheniformis</i>	MT259160	99,12%	0
<b>215</b>	673	<i>Bacillus licheniformis</i>	HQ143568	97,12%	0
<b>85</b>	877	<i>Bacillus sp.</i>	MN519547	97,82%	0
<b>292</b>	882	<i>Bordetella sp.</i>	MN610447	99,77%	0
<b>148</b>	1.154	<i>Brevundimonas diminuta</i>	LC507944	95,62%	0
<b>99</b>	988	<i>Halobacillus faecis</i>	MG566149	98,42%	0
<b>128</b>	1.363	<i>Halobacillus trueperi</i>	KR347197	99,92%	0
<b>220</b>	1.157	<i>Kocuria sp.</i>	MZ389220	96,96%	0
<b>151</b>	1.465	<i>Kushneria marisflavi</i>	CP021358	97,42%	0
<b>57</b>	1.180	<i>Oceanobacillus oncorhynchi</i>	KF817687	96,74%	0
<b>347</b>	1.449	<i>Ochrobactrum sp.</i>	KJ755998	94,52%	0
<b>140</b>	920	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MK928434	99,24%	0
<b>147</b>	841	<i>Salinicola sp.</i>	MK201760	95,44%	0
<b>131</b>	1.237	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KU922269	96,09%	0
<b>130</b>	1.114	<i>Staphylococcus scuri</i>	MT550814	98,07%	0
<b>116</b>	1.497	<i>Staphylococcus sp.</i>	MH546126	96,21%	0
<b>233</b>	1.486	<i>Staphylococcus sp.</i>	KF575157	96,23%	0
<b>309</b>	1.434	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	MN732973	96,50%	0
<b>316</b>	1.479	<i>Stenotrophomonas sp.</i>	MN208463	96,96%	0
<b>129</b>	1.553	<i>Virgibacillus sp.</i>	JN998439	93,15%	0

**Tabela 6.** Identificação dos isolados halofílicos moderados baseado no sequenciamento do gene *rrs*

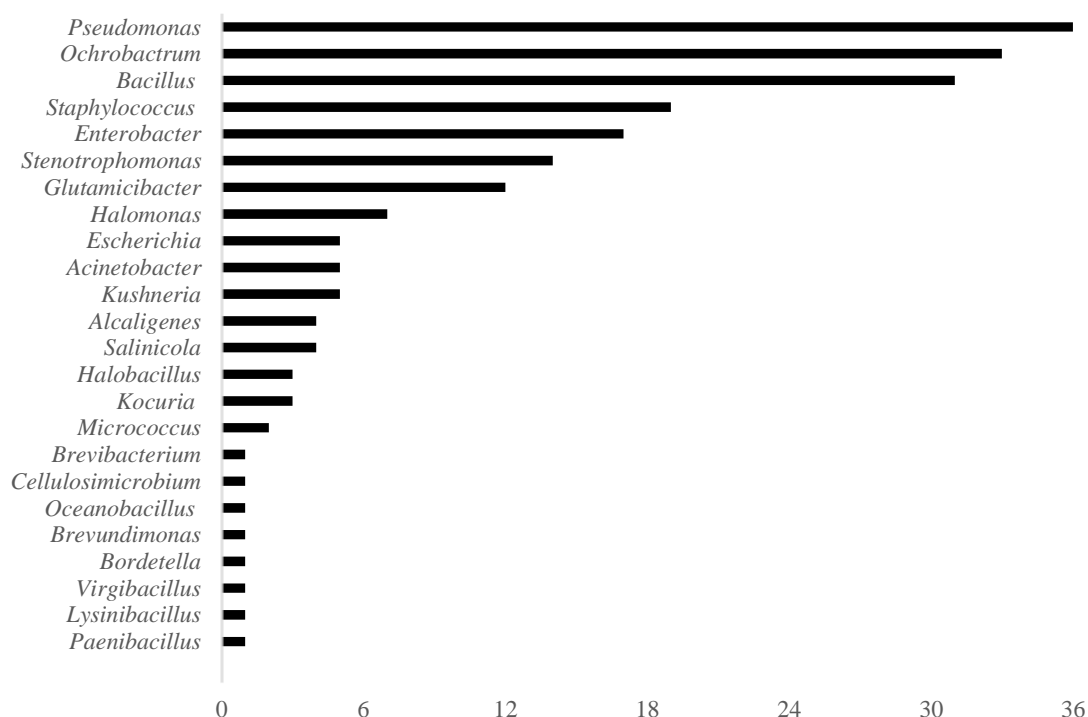
Isolado	Tamanho do fragmento (pb)	Maior similaridade no Blastn	Código NCBI	Identidade da sequência (%)	<i>E</i> value
48	1.091	<i>Brevibacterium album</i>	NR_044126	96,39%	0
103	1.127	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	MN732979	98,19%	0
16	1.455	<i>Halomonas halophila</i>	NR_116945	97,28%	0
8	1.132	<i>Halomonas halophila</i>	NR_116945	97,79%	0
12	1.468	<i>Halomonas halophila</i>	NR_116945	96,89%	0
49	833	<i>Halomonas sp.</i>	MK818790	93,25%	4,00 <sup>-97</sup>
102	1.120	<i>Kushneria avicenniae</i>	MH844971	97,97%	0
58	564	<i>Kushneria avicenniae</i>	MH844971	94,14%	0
100	855	<i>Kushneria avicenniae</i>	KF560351	98,25%	0
104	1.461	<i>Kushneria avicenniae</i>	NR_044001	97,14%	0
15	1.003	<i>Salinicola sp.</i>	MK201760	97,46%	0
127	1.498	<i>Salinicola sp.</i>	MK201760	95,07%	0
149	840	<i>Salinicola sp.</i>	MK201760	98,93%	0
150	1.166	<i>Salinicola tamaricis</i>	MT192575	97,70%	0
98	1.034	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CP060157	83,27%	0
14	862	<i>Staphylococcus scuri</i>	MT550814	99,42%	0
59	936	<i>Staphylococcus scuri</i>	MN401141	98,29%	0
50	836	<i>Staphylococcus scuri</i>	KP400530	99,02%	0
55	1.504	<i>Staphylococcus scuri</i>	MT907270	90,19%	0
95	1.067	<i>Staphylococcus scuri</i>	KR812401	96,95%	0
53	-	-	-	-	-

Observa-se que novos gêneros foram identificados indicando que é provável que o banco de dados do MALDI TOF-MS utilizado é limitado para o tipo de amostra processada, já que amostras clínicas são as principais tipo de amostra analisada no aparelho utilizado. Uhlik e colaboradores em 2011 também utilizaram o MALDI TOF-MS para identificação de microrganismos de solos rizosféricos, porém também não foi possível a identificação de todos os isolados, que foram identificados pelo sequenciamento da região *rrs*. Recentemente, trabalhos vêm sendo desenvolvidos com intuito de criar banco de dados com espectro padrão de microrganismos provenientes de amostras ambientais, no entanto, ainda há poucos relatos na literatura devido à dificuldade da criação de banco de dados; a elaboração de banco de dados apresenta alto custo e é um processo demorado (FERGUSSON et al., 2020; CROSSAY et al., 2017; RAHI et al., 2016). Dessa forma, o sucesso da identificação pela técnica MALDI TOF-MS depende do tamanho e qualidade do banco de dados utilizado (FERGUSSON et al., 2020).

A identificação genotípica é o método mais utilizado para a identificação de amostras ambientais, e tem sido considerado eficiente e seguro para a identificação de isolados bacterianos halotolerantes e halofílicos provenientes da rizosfera (DIAZ-CARDENAS et al., 2017).

Dentre os 208 isolados, que puderam ser caracterizados com os métodos de identificação proteômica e genotípica, foram identificados 23 gêneros bacterianos. Os gêneros identificados

em maior abundância foram *Pseudomonas* (36 isolados), *Ochrobactrum* (33 isolados), *Bacillus* (31 isolados), *Staphylococcus* (19 isolados), *Enterobacter* (19 isolados), *Stenotrophomonas* (14 isolados) e *Glutamicibacter* (12 isolados) (Figura 7). Em menor abundância foram identificados os gêneros *Halomonas* (7 isolados), *Escherichia* (5 isolados), *Acinetobacter* (5 isolados), *Kushneria* (5 isolados), *Alcaligenes* (4 isolados), *Salinicola* (4 isolados), *Halobacillus* (3 isolados), *Kocuria* (3 isolados), *Micrococcus* (2 isolados). Os gêneros *Brevibacterium*, *Cellulosimicrobium*, *Oceanobacillus*, *Brevundimonas*, *Bordetella*, *Virgibacillus*, *Lysinibacillus*, e *Paenibacillus* apresentaram um isolado atribuído a cada gênero (Figura 7).



**Figura 7.** Gêneros de bactérias rizoféricas identificados pela técnica MALDI TOF-MS e sequenciamento do gene *rrs*.

#### 4.4 Distribuição das Bactérias Rizoféricas

O gênero *Pseudomonas* foi isolado dos solos rizoféricos das plantas *Salicornia gaudichadiana*, *Salicornia fruticosa* e *Cyperus ligularis* (Tabela 7). Os isolados pertencentes a este gênero foram classificados como não halofílicos, halotolerantes e halofílicos, porém a maioria como halotolerantes (Tabela 4). Este gênero é frequentemente encontrado na rizosfera de diferentes plantas, apresentando diversos mecanismos de promoção do crescimento vegetal (NYBROE, 2004). A espécie *Pseudomonas pseudoalcaligenes* foi isolada da endorizosfera da planta halófito *Salicornia europaea* (OZAWA et al. 2007). Diversas espécies de *Pseudomonas* podem tolerar altas concentrações de sais, sendo classificadas como bactérias halotolerantes. Para algumas espécies, é relatada a necessidade de íons de sódio para o seu crescimento sendo consideradas halofílicas (AMOOZEGAR et al, 2014).

O gênero *Ochrobactrum* foi identificado em todos os solos rizoféricos associados às plantas coletadas (Tabela 7). Os isolados que pertencem a este gênero foram classificados como não halofílicos e halotolerantes (Tabela 4). Há relatos do isolamento de bactérias halotolerantes pertencentes ao gênero *Ochrobactrum*, que foram isoladas da rizosfera de plantas gênero

*Acacia*, derivadas de zonas áridas e semiáridas, e na rizosfera da planta *Arthrocnemum indicum* proveniente de mangues (BOUKHATEM et al., 2012; SHARMA et al., 2016).

**Tabela 7.** Distribuição de bactérias isoladas na rizosfera de plantas halófitas

Gêneros bacterianos	Planícies hipersalinas	Salina desativada		Lagoa hipersalina	
	<i>Salicornia gaudichadiana</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	<i>Blutaparon portulacoides</i>	<i>Sporobolus virginucus</i>	<i>Cyperus ligularis</i>
<i>Pseudomonas</i>	31	2	-	-	3
<i>Ochrobactrum</i>	21	4	1	3	4
<i>Bacillus</i>	11	4	1	4	11
<i>Staphylococcus</i>	10	3	2	2	3
<i>Enterobacter</i>	16	-	-	-	1
<i>Stenotrophomonas</i>	13	1	-	-	-
<i>Glutamicibacter</i>	-	8	-	-	4
<i>Halomonas</i>	-	3	-	3	1
<i>Escherichia</i>	5	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i>	5	-	-	-	-
<i>Kushneria</i>	2	3	-	-	1
<i>Alcaligenes</i>	4	-	-	-	-
<i>Salinicola</i>	2	-	1	1	-
<i>Halobacillus</i>	-	1	1	-	-
<i>Kocuria</i>	3	-	-	-	-
<i>Micrococcus</i>	2	-	-	-	-
<i>Brevibacterium</i>	-	-	-	-	1
<i>Cellulosimicrobium</i>	1	-	-	-	-
<i>Oceanobacillus</i>	-	-	-	-	1
<i>Brevundimonas</i>	1	-	-	-	-
<i>Bordetella</i>	1	-	-	-	-
<i>Virgibacillus</i>	-	-	1	-	-
<i>Lysinibacillus</i>	-	-	-	-	1
<i>Paenibacillus</i>	1	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>129</b>	<b>29</b>	<b>6</b>	<b>13</b>	<b>31</b>

Meios de cultura utilizados para o isolamento: *S. gaudichadiana* – TSA, Agar Nutritivo, Ágar Saboraund e BDA; *S. fruticosa*, *B. portulacoides*, *S. virginucus* e *C. ligularis* – Ágar Nutritivo e BDA.

O gênero *Bacillus* também foi isolado em todos os solos rizosféricos (Tabela 7). Os isolados pertencentes a este gênero foram classificados como não halofílicos, halotolerantes e halofílicos moderados (Tabela 4). Essas bactérias são relatadas como um dos principais gêneros encontrados na rizosfera de diversas plantas (COMPANT et al., 2005). O gênero *Bacillus* foi encontrado associado a plantas halófitas como *Arthrocnemum macrostachyum*, em que foram isoladas estirpes de *Bacillus* spp. halotolerantes promotores de crescimento vegetal capazes de mitigar os efeitos do estresse salino no crescimento vegetal, possivelmente através de mecanismos de diminuição de enzimas antioxidantes ou produção de solutos orgânicos (NAVARRO-TORRE et al., 2016). Zhao et al. (2016) isolaram em plantas *Salicornia europaea*

bactérias endofíticas do gênero *Bacillus* halotolerantes capazes de aumentar a porcentagem de germinação, possivelmente através de mecanismos de promoção de crescimento.

O gênero *Staphylococcus* também foi isolado em todos os solos rizosféricos (Tabela 7). Estes isolados foram classificados como não halofílicos, halotolerantes e halofílicos moderados (Tabela 4). Diferentes espécies de *Staphylococcus* spp. já foram isoladas de solos salinos e da rizosfera de plantas halófitas, com diversos membros considerados promotores de crescimento vegetal (SANDHYA et al., 2012; RAZZAGHI- KOMARESOFLA et al., 2019). Shahid e colaboradores em 2019 isolaram duas estirpes de *Staphylococcus* spp. que promoveram o crescimento de plantas de milho sob estresse salino. As bactérias isoladas aumentaram a atividade de enzimas antioxidantes diminuindo formas reativas de oxigênio nas células vegetais, diminuindo o estresse salino.

O gênero *Enterobacter* foi isolado na rizosfera das plantas *Salicornia gaudichadiana* e *Cyperus ligularis* (Tabela 7). Os isolados pertencentes a este gênero foram classificados em sua maioria como halotolerantes (Tabela 4). Bactérias pertencentes a este gênero e classificadas como halotolerantes foram isoladas da rizosfera de plantas halófitas e solos salinos (DOLKAR et al., 2018; ROOHI et al., 2012). Sarkar e colaboradores em 2017 isolaram uma estirpe halotolerante de *Enterobacter* sp. da rizosfera de arroz, que apresentou capacidade de promoção do crescimento do arroz em condições de estresse salino por meio da atividade enzimática da ACC-deaminase.

O gênero *Stenotrophomonas* foi isolado da rizosfera das plantas *Salicornia gaudichadiana* e *Salicornia fruticosa* e os isolados pertencentes a este gênero foram classificados como não halofílicos e halotolerantes (Tabela 5 e 7). Os gêneros *Kocuria* e *Micrococcus* foram isolados da rizosfera de *Salicornia gaudichadiana* (Tabela 7). Isolados de *Micrococcus* spp. foram classificados como não halofílicos e halotolerantes e os isolados *Kocuria* spp. foram classificados como halotolerantes (Tabela 5). Ferreira et al. (2021) isolaram os gêneros *Stenotrophomonas*, *Kocuria* e *Micrococcus* da rizosfera e dos tecidos vegetais da planta *Salicornia ramosissima*.

O gênero *Glutamicibacter* foi isolado da rizosfera das plantas *Salicornia fruticosa* e *Cyperus ligularis* (Tabela 7). Os isolados pertencentes a este gênero foram classificados como halotolerantes (Tabela 4). Bactérias pertencentes a este gênero tem sido classificada como halotolerantes, podendo tolerar de 7% a 13% de NaCl, dependendo da espécie (BUSSE; WIESER, 2016). As espécies de *Glutamicibacter* spp. são encontradas em diversos ambientes, como solos e rizosfera de plantas halófitas. Em 2018, Qin e colaboradores isolaram das raízes da planta halófito *Limonium sinense*, estirpes do gênero *Glutamicibacter* que apresentaram tolerância a altas concentrações de NaCl. Algumas estirpes promoveram crescimento vegetal em condições de estresse salino.

O gênero *Escherichia* foi isolado da rizosfera da planta *Salicornia gaudichadiana* (Tabela 7), os isolados pertencentes ao gênero foram classificados como não halofílicos e halotolerantes (Tabela 4). *Escherichia* spp. não é um gênero comumente relatado em ambientes salinos, no entanto, Roohi et al. (2012) isolaram e caracterizaram uma estirpe bacteriana halotolerante identificada como *Escherichia hermannii* provenientes de amostras de água, sedimentos e rochas de depósitos salinos.

O gênero *Acinetobacter* e *Cellulosimicrobium* foram isolados da rizosfera de *Salicornia gaudichadiana* (Tabela 7). Os isolados pertencentes ao gênero *Acinetobacter* foram classificados como não halofílicos e halotolerantes e os do gênero *Cellulosimicrobium* foram classificados como halotolerantes (Tabela 4). Estirpes bacterianas pertencentes ao gênero *Acinetobacter* já foram isoladas de diferentes plantas halófitas como *Psoralea corylifolia* e *Salicornia brachiata* (SORTY et al., 2016; ARORA et al., 2014). O gênero *Cellulosimicrobium* é pouco estudado, tendo escassos relatos de membros pertencentes a este gênero em ambientes

salinos. Yoon et al. (2007) isolaram do solo bactérias halotolerantes capazes de tolerar 9% de NaCl, identificadas como *Cellulosimicrobium* spp.

O gênero *Bordetella* foi isolado da rizosfera de *Salicornia gaudichadiana* (Tabela 7), e foi classificado como halotolerante (Tabela 5). Este gênero é pouco relatado em solo, principalmente salinos. Trabelsi e colaboradores em 2009 isolaram bactérias pertencentes a este gênero de solos agrícolas e salinos. O gênero *Brevundimonas* foi isolado da rizosfera de *Salicornia gaudichadiana* (Tabela 7), e foi classificado como halotolerante (Tabela 5). Há poucos estudos descritos na literatura sobre este gênero, e não há relato de sua presença na rizosfera de plantas halófitas. Yoon et al. (2006) isolaram uma estirpe halotolerante de *Brevundimonas* em solos alcalinos.

O gênero *Halobacillus* foi identificado em isolados da planta *Salicornia fruticosa* e *Blutaparon portulacoides* (Tabela 7), sendo classificados como halotolerantes e halofílicos moderados (Tabela 5 e 6). Há relatos do isolamento de estirpes de *Halobacillus* spp. em solos salinos e rizosfera de plantas halófitas capazes de tolerar altas concentrações de sais e promover o crescimento vegetal em condições de estresse salino (ORHAN, 2016; DESALE et al., 2014).

O gênero *Kushneria* foi isolado em plantas *Salicornia gaudichadiana*, *Salicornia fruticosa* e *Cyperus ligularis* (Tabela 7). Estes foram classificados em sua maioria como halofílicos moderados (Tabela 6). Os membros pertencentes a este gênero geralmente são classificados como halofílicos, sendo isolado de diversos ambientes salinos como a rizosfera da planta *Avicennia germinans* provenientes de mangue (SANCHEZ-PORRO et al. 2009) e a rizosfera *Saccharum spontaneum* provenientes de salinas (BANGASH et al., 2015). O gênero *Oceanobacillus* foi identificado na planta *Cyperus ligularis* (Tabela 7), sendo classificado como halotolerante (Tabela 5). O gênero *Virgibacillus* foi identificado na planta *Blutaparon portulacoides* (Tabela 7), e foi classificado como halotolerante (Tabela 5). Já o gênero *Brevibacterium* foi identificado na planta *Cyperus ligularis* (Tabela 7), sendo classificado como halofílico moderado (Tabela 6). Roohi e colaboradores em 2012 isolaram bactérias classificadas como halotolerantes e halofílicas pertencentes aos gêneros *Oceanobacillus*, *Virgibacillus* e *Brevibacterium* provenientes de amostras de depósitos salinos naturais.

O gênero *Salinicola* foi identificado nas plantas *Salicornia gaudichadiana*, *Blutaparon portulacoides* e *Sporobolus virginicus* (Tabela 7), a maioria dos isolados pertencentes ao gênero foram classificados como halofílicos moderados (Tabela 6). Este gênero foi relatado anteriormente em amostras da rizosfera de plantas halófitas, como por exemplo Ferreira e colaboradores em 2021, que isolaram da rizosfera da planta *Salicornia ramosissima* bactérias pertencentes a este gênero.

O gênero *Paenibacillus* foi identificado na planta *Salicornia gaudichadiana* (Tabela 7), e foi classificado como halofílico moderado (Tabela 4). Este gênero apresenta espécies geralmente relatadas como diazotróficas associadas a rizosfera de plantas em diversos ambientes (HONG et al., 2009; GAO et al., 2012; MA et al., 2007; MA et al., 2008; XIE et al., 2012). Membros deste gênero foram isolados da rizosfera de plantas de ambientes salinos, como mangues e zonas costeiras. Bashar e Prabakaran em 2011 isolaram uma bactéria halofílica fixadora de nitrogênio pertencente ao gênero *Paenibacillus* da rizosfera da planta *Avicennia marina*. Karnwal em 2019 isolou uma estirpe bacteriana halotolerante da planta *Salicornia brachiata* identificada como *Paenibacillus polymyxa*.

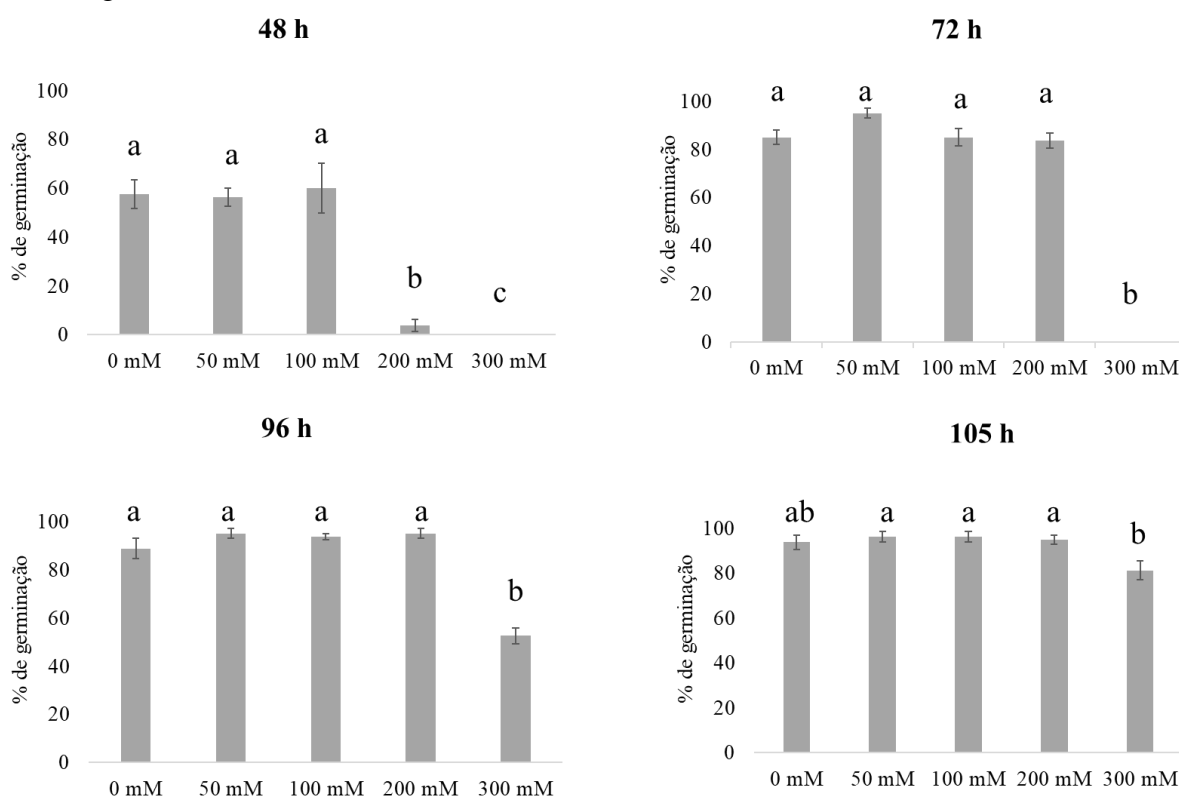
O gênero *Halomonas* foi isolado em plantas *Salicornia fruticosa*, *Sporobolus virginicus* e *Cyperus ligularis* (Tabela 7), sendo os isolados classificados como halofílicos moderados (Tabela 4 e 6). O gênero *Halomonas* é o mais abundante da família Halomonadaceae, e geralmente são considerados halofílicos moderados. Espécies do gênero *Halomonas* são encontradas em diversos ambientes salinos (JIANG et al., 2014). Mukherjee e colaboradores

em 2019 isolaram a espécie *Halomonas Rhizobacteria* da rizosfera da planta halófito *Avicennia marina*. A estirpe isolada promoveu crescimento em arroz sob condições de estresse salino.

A rizosfera das plantas halófitas estudadas neste trabalho apresentaram gêneros geralmente relatados em ambientes salinos como solos e rizosfera de plantas halófitas corroborando com diversos estudos. Dos gêneros encontrados, alguns isolados foram identificados em todas as plantas, e outros gêneros foram identificados em algumas ou em uma única planta, indicando que as espécies vegetais podem influenciar a comunidade de bactérias presentes em sua rizosfera, e diferentes espécies de plantas apresentam comunidades bacterianas distintas mesmo ocorrendo no mesmo tipo de solo (BERG et al., 2009).

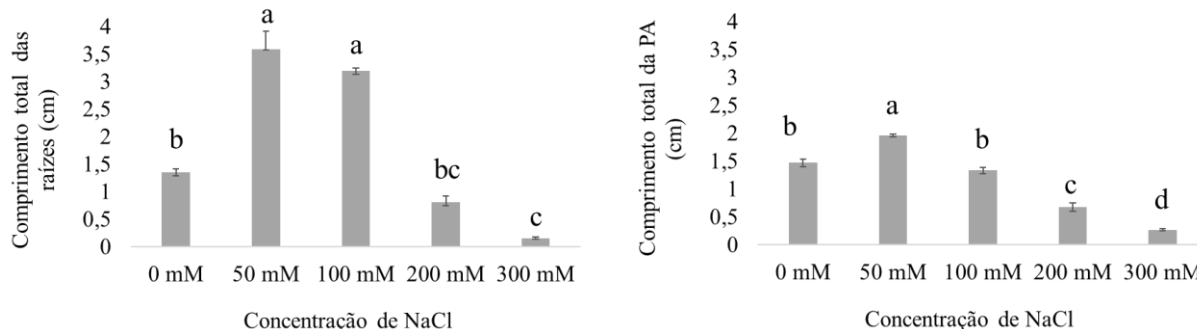
#### 4.5 Efeito da Salinidade na Germinação do Arroz (*Oryza sativa*)

Realizou-se um experimento para avaliar como diferentes concentrações de NaCl afetam o processo germinativo de arroz (*Oryza sativa*) cultivar BRS Esmeralda. Em 24 horas após o início do ensaio, não houve germinação em nenhuma das concentrações testadas. Nas concentrações de 0, 50 e 100 mM, as médias de sementes germinadas não diferiram em todos os tempos de análise. Em comparação com as concentrações citadas acima, na concentração de 200 mM houve uma redução no número de sementes germinadas no tempo de 48 h, porém após esse tempo não houve diferenças significativas em comparação as concentrações mais baixas (Figura 8). Na concentração de 300 mM de NaCl não houve germinação de sementes nos três primeiros dias (72 horas), ocorrendo apenas no quarto dia (96 horas), apresentando menor porcentagem de germinação que as concentrações mais baixas de NaCl até o tempo de 105 horas (Figura 8).



**Figura 8.** Efeito da salinidade na porcentagem de germinação das sementes de em 48 h, 72 h, 96 h e 105 h. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. As barras verticais indicam erro padrão da média.

Nos resultados relacionados ao comprimento da parte aérea, observa-se que na concentração de 50 mM de NaCl as plântulas de arroz apresentaram maior comprimento médio entre as concentrações avaliadas (Figura 9). Plântulas dos tratamentos com 200 e 300 mM apresentaram os menores valores no comprimento médio da parte aérea. Em relação ao comprimento das raízes, as maiores médias obtidas ocorreram nas concentrações de 50 e 100 mM de NaCl (Figura 9). Em 300 mM de NaCl, as plântulas apresentaram uma redução acentuada do crescimento radicular, com os menores valores médios das raízes.



**Figura 9.** Efeito da salinidade na altura total (cm) das raízes e no comprimento total (cm) da parte aérea (PA) das plântulas com 5 dias (105 horas). Os valores dos parâmetros correspondem a média. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. As barras verticais indicam erro padrão da média.

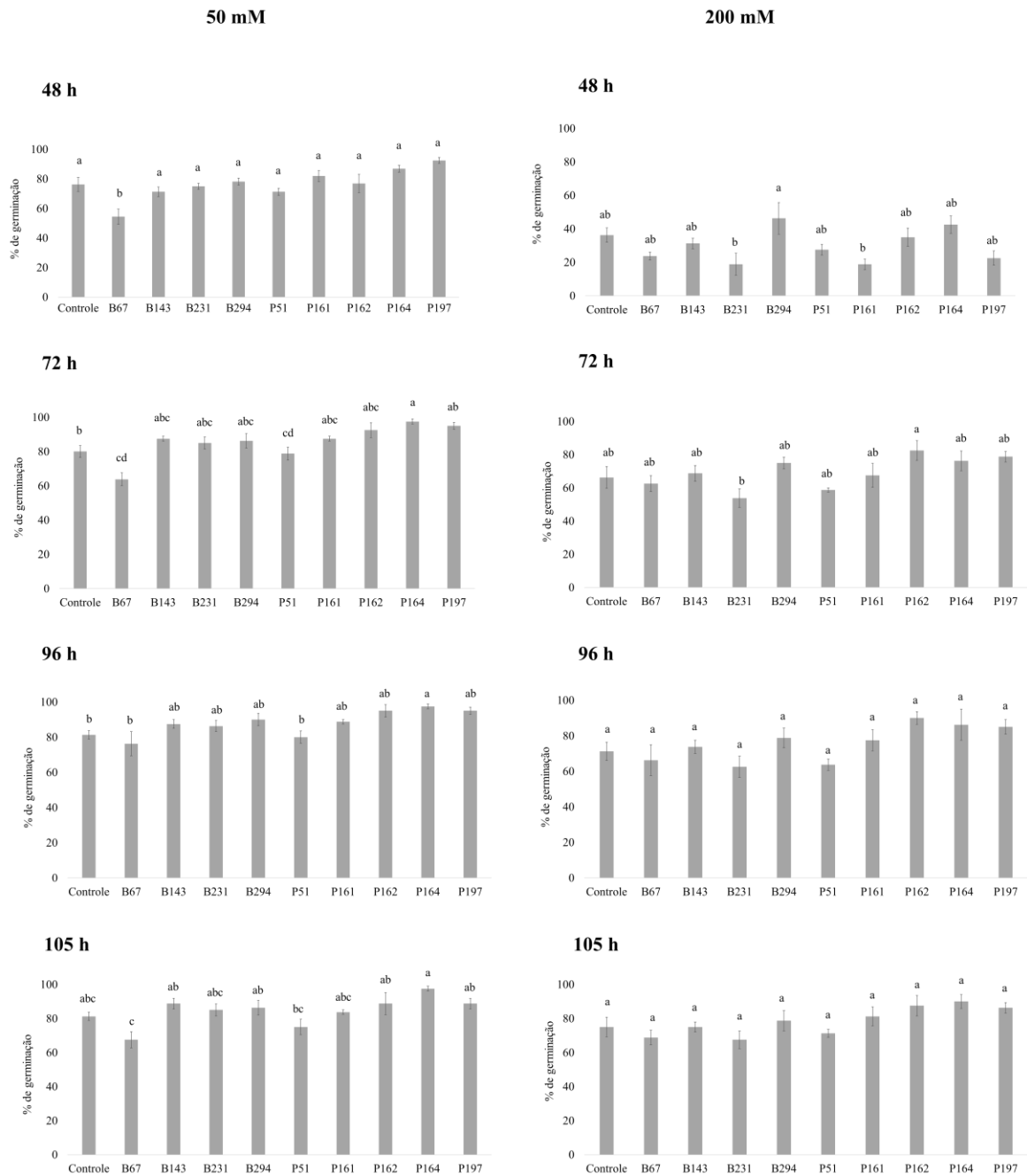
De forma geral, pôde-se observar que o intervalo de concentração de NaCl ideal para a germinação e maior de comprimento da raiz e parte aérea do arroz foi de 0 mM a 100 mM, apresentando melhores médias na concentração de 50 mM. Nas concentrações de 200 e 300 mM houve uma redução drástica na germinação e comprimento da raiz e parte aérea, indicando que estas concentrações podem limitar a germinação do arroz.

#### 4.6 Potencial das Bactérias Halotolerantes na Redução do Estresse Salino do Arroz (*Oryza sativa*)

A partir dos resultados da análise do efeito da salinidade na germinação do arroz, a concentração de 50 mM de NaCl foi selecionada como a ideal para germinação e a concentração de 200 mM como inibidora para germinação de arroz. Dentre os dois gêneros mais identificados, nove bactérias classificadas como halotolerantes pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* foram inoculadas em sementes de arroz nas duas concentrações de NaCl selecionadas, para avaliar o efeito da inoculação na germinação das sementes em condições de presença e ausência de estresse salino.

Não houve germinação das sementes de arroz em nenhum tratamento após 24 horas. No tratamento com 50 mM, observa-se que 48 horas após a implementação do ensaio a maioria dos tratamentos inoculados não diferiram significativamente do controle, apenas as sementes inoculadas com o isolado do gênero *Bacillus* B67 apresentaram menor porcentagem de germinação, diferindo estatisticamente do controle e demais isolados (Figura 10).





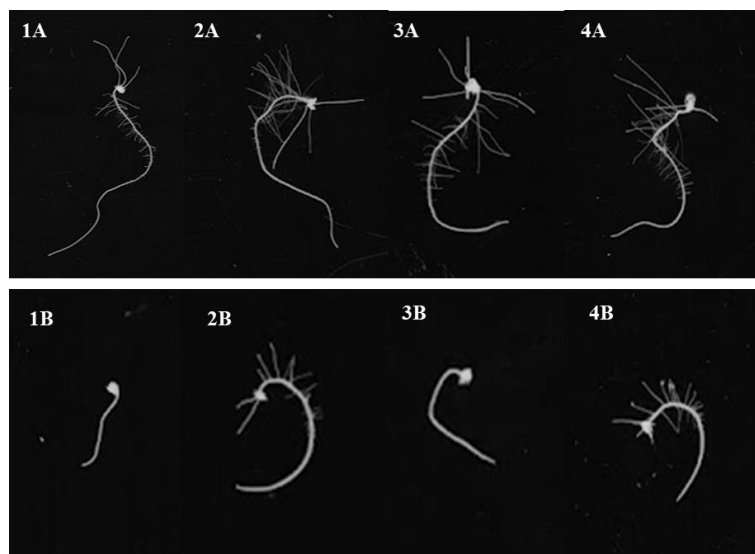
**Figura 10.** Efeito da inoculação de bactérias halotolerantes na porcentagem de sementes germinadas na concentração de 50 mM e 200 mM. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. As barras verticais indicam erro padrão da média. B67- *Bacillus* sp. (isolado 67); B143 - *Bacillus* sp. (isolado 143); B231- *Bacillus* sp. (isolado 231); B294 - *Bacillus* sp. (isolado 294); P51 – *Pseudomonas* sp. (isolado 51); P161: *Pseudomonas* sp. (isolado 161); P162 – *Pseudomonas* sp. (isolado 162); P164 - *Pseudomonas* sp. (isolado 164); PA197 – *Pseudomonas* sp. (isolado 197).

No entanto, após 96 horas, a porcentagem de germinação deste tratamento igualou-se ao controle. Nos tempos de 72 horas e 96 horas, sementes inoculadas com o isolado do gênero *Pseudomonas* P164 apresentaram maior porcentagem de germinação, diferindo estatisticamente do controle (Figura 10). No tempo de 105 horas, observa-se que o tratamento

com inóculo P164 manteve a porcentagem de germinação, porém, houve o aumento da porcentagem de germinação das sementes inoculadas com os demais inóculos e do controle, aproximando com as médias do isolado PA164. Os resultados demonstram que na concentração de 50 mM, o isolado PA164 promoveu maior porcentagem de germinação em relação aos demais tratamentos no terceiro dia e quarto dia do processo de germinação, indicando que esta bactéria pode influenciar na velocidade de germinação das sementes, promovendo um aumento precoce no percentual de germinação.

Na concentração de 200 mM, também não houve germinação em nenhum tratamento testado no tempo de 24 horas após implementação do experimento. Nos demais tempos analisados não houve diferenças significativas entre o controle e os tratamentos inoculados (Figura 9), demonstrando que os isolados testados não influenciaram na porcentagem de germinação das sementes de arroz em condições de estresse salino.

Na concentração de 50 mM, as plântulas inoculadas com os isolados de *Pseudomonas* P51 e P164 apresentaram raízes com maiores valores de comprimento total e área superficial, apresentando diferenças significativas com o controle (Figura 11). Em relação ao volume radicular total, as sementes inoculadas com o isolado de *Bacillus* P51 obtiveram maior volume radicular total em relação ao controle. Plântulas dos tratamentos com *Pseudomonas* P161 e P162 apresentaram um volume radicular total significativamente menor do que o controle (Figura 10). As plântulas inoculadas com os isolados de *Bacillus* B67, B143, B231 e *Pseudomonas* P164 apresentam maiores números de ápices em comparação ao controle e demais isolados (Figura 10). Nos resultados do comprimento total da parte aérea, os tratamentos inoculados não apresentaram diferença significativa com o controle (Figura 10).



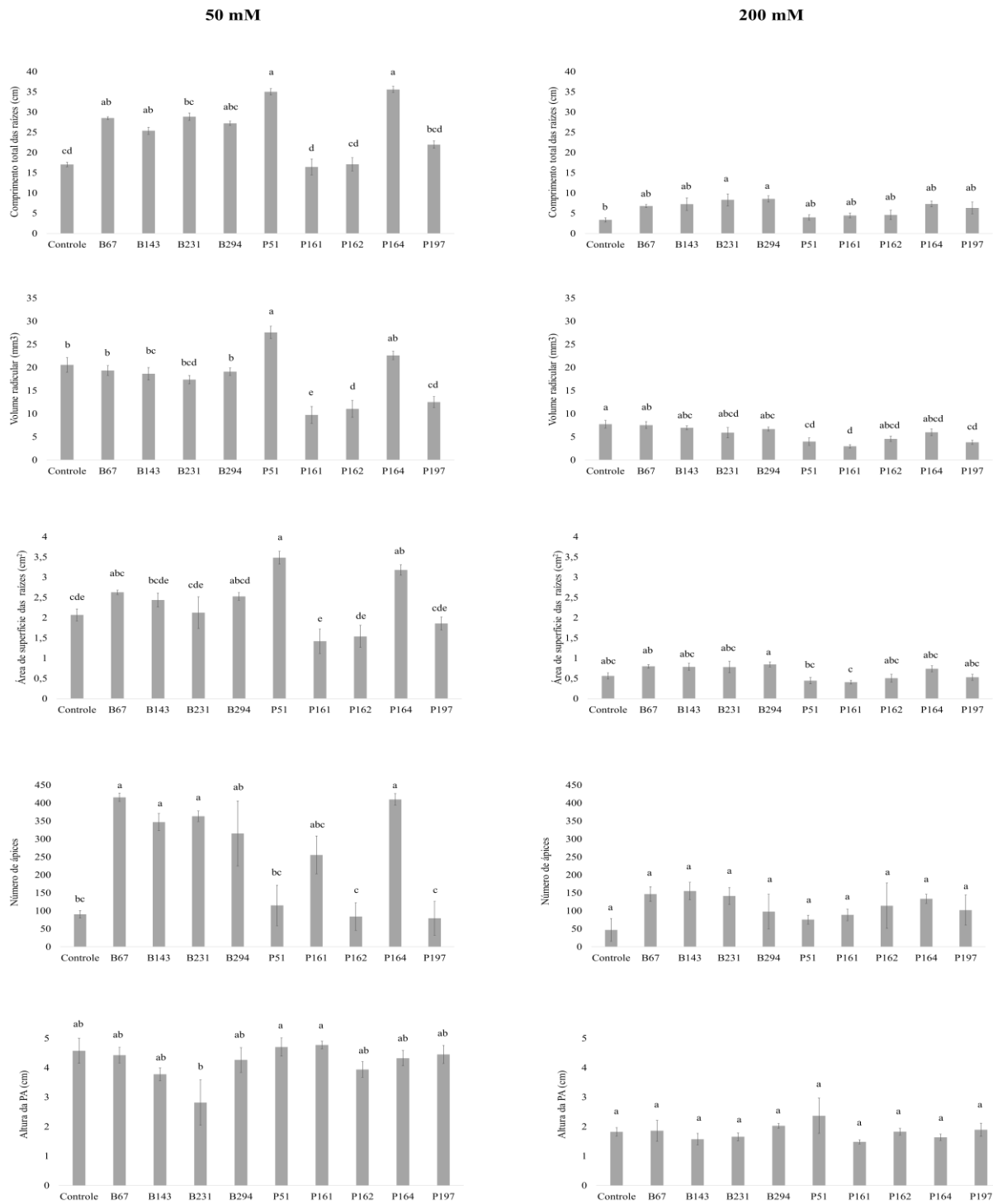
**Figura 11.** Imagens digitalizadas das raízes de arroz após 105 horas nas concentrações de 50 mM (A) e 200 mM (B). 1A – Controle (50 mM); 2A – B67 (50 mM); 3A – P51 (50 mM); 4A – P164 (50 mM); 1B – Controle (200 mM); 2B – B67 (200 mM); 3B – P51 (200 mM); 4B – P164 (200 mM). B67- *Bacillus* sp. (isolado 67); P51 – *Pseudomonas* sp. (isolado 51); P164 - *Pseudomonas* sp. (isolado 164).

Nas condições ideais para o desenvolvimento das plântulas a 50 mM, o efeito positivo nos parâmetros morfológicos radiculares variou de acordo com as estirpes inoculadas (Figura 11). A estirpe PA51 proporcionou alongamento radicular nas plântulas e maiores áreas de superfície e volume radicular; enquanto outras estirpes (B231, B67, B143 e P164) promoveram

alongamento radicular e aumentaram o número de ápices. O comprimento radicular e número de ápices são parâmetros importantes na arquitetura radicular para aquisição de nutrientes e água (ZONTA et al., 2018). O crescimento radicular promove raízes mais longas às plantas, permitindo a extração de nutrientes essenciais ao longo do perfil do solo (ZONTA et al., 2018). O número de ápices pode indicar a quantidade de ramificação das raízes, as raízes laterais desempenham a principal função de aumentar a penetração através das camadas do perfil do solo, resultando em maior absorção de nutrientes e água (ZONTA et al., 2018; WIJEWARDANA et al., 2015; KUMAR et al., 2014). Consequentemente, o número e distribuição das raízes laterais podem melhorar a habilidade de sobrevivência e estabelecimento das plantas (KUMAR et al., 2014). O hormônio auxina pode estar envolvido no alongamento e ramificação radicular de plantas inoculadas com bactérias rizosféricas, há amplas evidências de que diversas rizobactérias estão envolvidas na síntese de AIA no solo e em meio de cultura (BAL et al., 2012; SPAEPEN; VANDERLEYDEN, 2011). Os níveis de AIA produzidos pelas bactérias rizosféricas determina o efeito na planta hospedeira, níveis altos de produção de auxina induz o desenvolvimento vegetal estimulando a formação de raízes laterais. Enquanto, em níveis baixos, a auxina estimula o alongamento das raízes (BAL et al., 2012).

Em relação aos parâmetros morfológicos das raízes e parte aérea, na concentração de 200 mM, os tratamentos inoculados com os isolados de *Bacillus* B231 e B294 apresentam maior comprimento total de raízes em comparação ao controle, indicando que estes isolados propiciaram efeito positivo no comprimento total das raízes em condições de estresse salino (Figura 11 e Figura 12). Em relação ao volume radicular total, a maioria dos tratamentos inoculados não diferiu estatisticamente do controle, exceto aqueles inoculados com os isolados de *Pseudomonas* P51, P161 e P197 que apresentaram menores médias em relação ao controle (Figura 12). Em relação aos parâmetros superfície radicular, número de pontas radiculares e comprimento total da parte aérea, os tratamentos inoculados não diferiram estatisticamente do controle (Figura 12).

Houve uma redução drástica dos parâmetros das plântulas em condições de estresse salino a 200 mM (Figura 11 e 12). A redução nos parâmetros está ligada aos efeitos tóxicos da alta concentração de sal na germinação e no crescimento e estabelecimento das plântulas de arroz (FLOWERS; FLOWERS, 2005; ASCH et al., 2001; KHATUN; FLOWERS, 1995). No entanto, as estirpes de *Bacillus* B231 e B294 afetaram positivamente o comprimento das raízes das plântulas em condições de estresse salino; e o aumento do comprimento radicular pode favorecer o melhor estabelecimento da plântula de arroz em condições salinas. O estresse salino pode afetar a concentração endógena de etileno, e a alta concentração desse fitohormônio inibe o crescimento das plantas, reduzindo principalmente o comprimento das raízes (SHAHAROONA et al., 2006). Diversos estudos relatam que em condições de estresse salino, a inoculação com rizobactérias promotoras de crescimento vegetal pode reduzir os níveis de etileno endógeno das plantas (MAYAK et al., 1999; GLICK et al., 1998; HALL et al., 1996). Estas bactérias agem absorvendo o precursor do etileno das plantas, ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), e em seguida este é hidrolisado através da ação da enzima ACC-deaminase (GLICK et al., 1998). Bal e colaboradores em 2012 relataram que as atividades enzimáticas da ACC-deaminase de estirpes bacterianas apresentaram correlação positiva com o alongamento radicular de plântulas de arroz.



**Figura 12.** Efeito da inoculação de bactérias halotolerantes no comprimento total das raízes (cm), área da superfície de raízes (cm<sup>2</sup>), volume radicular total (mm<sup>3</sup>), número de ápices e altura total da parte aérea – PA (cm) na concentração de 50 mM e 200 mM. Os valores dos parâmetros correspondem a média. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. As barras verticais indicam erro padrão da média. B67- *Bacillus* sp. (isolado 67); B143 - *Bacillus* sp. (isolado 143); B231- *Bacillus* sp. (isolado 231); B294 - *Bacillus* sp. (isolado 294); P51 – *Pseudomonas* sp. (isolado 51); P161: *Pseudomonas* sp. (isolado 161); P162 – *Pseudomonas* sp. (isolado 162); P164 - *Pseudomonas* sp. (isolado 164); PA197 – *Pseudomonas* sp. (isolado 197).

As espécies de bactérias halotolerantes inoculadas demonstraram diferentes comportamentos nos resultados de porcentagem de germinação das sementes e parâmetros morfológicos das plântulas de arroz de acordo com a concentração de sal. Na concentração de 50 mM de NaCl, os inóculos P51 e P164, pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, proporcionaram aumento da maioria dos parâmetros analisados em comparação ao tratamento não inoculado. Os inóculos B231, B67 e B143, pertencentes ao gênero *Bacillus*, promoveram alongamento radicular e maior número de pontas. Já na concentração de 200 mM, os inóculos B231 e B294, pertencentes ao gênero *Bacillus* proporcionaram aumento no comprimento total das raízes em comparação ao tratamento não inoculado.

Ambos os gêneros apresentam membros que são relatados como eficientes promotores de crescimento em condições salinas e não salinas (EGAMBERDIEVA et al., 2019). Foi relatado por Etesami et al (2014), que membros do gênero *Pseudomonas* promoveram o alongamento em plântulas de arroz e que o mecanismo de produção de AIA apresentou maior correlação com o alongamento radicular do que a produção de ACC-deaminase, solubilização de fosfato e produção de sideróforos. Em geral, o gênero *Bacillus* é mais utilizado nas pesquisas realizadas com arroz, apresentando membros halotolerantes capazes de reduzir o estresse salino (KHAN et al., 2021; KUMAR et al., 2020; SULTANA et al., 2020; TAN et al., 2014). Misra e colaboradores, em 2017, isolaram bactérias halotolerantes que foram analisadas para promoção de crescimento em arroz em condições salinas. As estirpes pertencentes ao gênero *Bacillus* que apresentaram a atividade ACC-deaminase foram as predominantes na diminuição dos efeitos do estresse salino e no aumento da biomassa do arroz. Outros mecanismos como a produção de AIA, de exopolissacarídeos e de enzimas antioxidantes foram relatados em membros halotolerantes do gênero *Bacillus*, atuando na redução do estresse salino (KUMAR et al., 2021; SULTANA et al., 2020).

A abordagem mais comum utilizada para iniciar a seleção de estirpes promissoras para a promoção de crescimento vegetal é o método *in vitro*, que inclui a seleção pelas atividades mais conhecidas como ACC-deaminase, solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio (FIKEL et al., 2017). Esses métodos de seleção, no entanto, não determinam fenótipos associados a promoção de crescimento nas plantas (FINKEL et al., 2017). É necessário o desenvolvimento de novas abordagens para a seleção de grandes coleções de isolados, que elucidam a correlação entre a produtividade da planta e a compreensão dos mecanismos envolvidos. A pré-seleção de isolados diretamente no campo e o uso de métodos genotípicos podem ser técnicas importantes para a seleção de estirpes eficientes na promoção de crescimento vegetal (FINKEL et al., 2017). Cardinale e colaboradores, em 2015, testaram bactérias isoladas de plantas halotolerantes na promoção de crescimento de cevada sob condições de estresse salino realizados em experimento com vasos e em paralelo eles caracterizaram os isolados em meio de cultura para atividades de promoção de crescimento. Foi observado que os melhores isolados promotores de crescimento no teste na cevada não apresentaram um conjunto de atividades promissoras na promoção de crescimento em meio de cultura, e isolados com múltiplas atividades promotoras em meio de cultura não apresentaram promoção de crescimento na planta. Dessa forma, o trabalho de Cardinale e colaboradores reforçou que a pré-seleção baseado em meios de cultura podem não serem métodos adequados para a seleção de estirpes promotoras de crescimento, e ainda podem excluir da seleção organismos promissores para promotores de crescimento e novos mecanismos. No presente trabalho, o método utilizado para análise do potencial dos isolados bacterianos na promoção de crescimento pode ser eficiente na pré-seleção de estirpes promissoras, já que estas estirpes estão promovendo mudanças diretamente na produtividade da planta na presença e ausência estresse salino.

## 5. CONCLUSÕES

Bactérias halotolerantes são predominantes na rizosfera de plantas halófitas.

Os gêneros mais abundantes identificados na rizosfera das plantas halófitas foram *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* e *Bacillus*.

Sementes de arroz de cultivar BRS Esmeralda apresentaram a melhor taxa de germinação em 50 mM de NaCl, com limitação na germinação na concentração de 200 e 300 mM de NaCl.

Os isolados de rizobactérias halotolerantes B67, B143, B231, B294, P51 e P164, pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*, aumentaram o comprimento radicular de plântulas de arroz na presença e ausência de estresse salino.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A rizosfera de plantas halófitas pode ser considerada um ambiente promissor para a seleção de bactérias halotolerantes e halofílicas que promovam o crescimento vegetal. A seleção de novas estirpes bacterianas capazes de promover o crescimento de plantas glicólicas em condições de estresse salino, tornando-as mais tolerantes à esta condição é uma etapa preliminar importante para o desenvolvimento de biofertilizantes. Portanto, é preciso realizar ensaios de inoculação em casa de vegetação e em campo para avaliar as contribuições das estirpes bacterianas na produtividade das plantas, além de elucidar os mecanismos de promoção de crescimento envolvidos.

A perspectiva para os próximos trabalhos é ampliar o número de isolados que serão avaliados quanto à capacidade de promoção de crescimento vegetal na presença ou ausência de estresse salino em diferentes estágios de desenvolvimento de plantas de interesse agrícola, e elucidar os possíveis mecanismos de promoção de crescimento envolvidos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, P.; SHARMA, S. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. **Plant Soil Environ.**, v. 54, n. 3, p. 89–99, 2008.
- ALBUQUERQUE, A. G. B. M.; FERREIRA, T. O.; NÓBREGA, G. N.; ROMERO, R. E.; JÚNIOR, V. S.; MEIRELES, A. J. A.; OTERO, X. L. Soil genesis on hypersaline tidal flats (apicum ecosystem) in a tropical semi-arid estuary (Ceará, Brazil). **Soil Research**, v. 52, n. 2, p. 140-154, 2014.
- ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, T. L.; SCHÄFFER, A. A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic acids research**, v. 25, n. 17, p. 3389–3402, 1997.
- AMOOZEGAR, M. A.; SHAHINPEI, A.; SEPAHY, A. A.; MAKHDOUMI-KAKHKI, A.; SEYEDMAHDI, S. S.; SCHUMANN, P.; VENTOSA, A. *Pseudomonas salegens* sp. nov., a halophilic member of the genus *Pseudomonas* isolated from a wetland. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 64, n. 10, p. 3565-3570, 2014.
- AMOOZEGAR, M. A.; SAFARPOUR, A.; NOGHABI, K. A.; BAKHTIARY, T.; VENTOSA, A. Halophiles and their vast potential in biofuel production. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1895, 2019.
- ANZAI Y.; KIM H.; PARK J.Y.; WAKABAYASHI H.; OYAIZU H. Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. **Int J Syst Evol Microbiol.**, 2000.
- ARAHAL, D.; VENTOSA, A. Moderately Halophilic and Halotolerant Species of *Bacillus* and Related Genera. In book: **Applications and Systematics of Bacillus and Relatives**, p. 83 – 99. 2008.
- ARGANDOÑA, M.; FERNÁNDEZ-CARAZO, R.; LLAMAS, I.; MARTÍNEZ-CHECA, F.; CABA, J. M.; QUESADA, E. The moderately halophilic bacterium *Halomonas maura* is a free living diazotroph. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 244, p. 69-74, 2005.
- ARORA, S.; PATEL, P. N.; VANZA, M. J.; RAO, G. G. Isolation and characterization of endophytic bacteria colonizing halophyte and other salt tolerant plant species from coastal Gujarat. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 17, p. 1779-1788, 2014.
- ARZANI, A. Improving salinity tolerance in crop plants: A biotechnological view. In **Vitro Cell Developmental Biology - Plant**, v. 44, p. 373-383, 2008.
- ASCH, F.; WOPEREIS, M. C. S. Responses of field-grown irrigated rice cultivars to varying levels of floodwater salinity in a semi-arid environment. **Field Crops Research**, v. 70, n. 2, p. 127-137, 2001.
- BAL, H.; ADHYA, T. Diversity of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in rice soils of Odisha. **Plant Science Research**, v. 34, p. 7-33, 2012.



- BANGASH, A.; AHMED, I.; ABBAS, S.; KUDO, T.; SHAHZAD, A.; FUJIWARA, T.; OHKUMA, M. *Kushneria pakistanensis* sp. nov., a novel moderately halophilic bacterium isolated from rhizosphere of a plant (*Saccharum spontaneum*) growing in salt mines of the Karak area in Pakistan. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 107, n. 4, p. 991-1000, 2015.
- BATHE, S.; ACHOUAK, W.; HARTMANN, A.; HEULIN, T., SCHLOTTER, M.; LEBUHN, M. Genetic and phenotypic microdiversity of *Ochrobactrum* spp. **FEMS microbiology ecology**, v. 56, n. 2, p. 272-280, 2006.
- BARROS, M. F. C.; FONTES, M. P. F.; RUIZ, H. A.; ALVAREZ, V. V. H. Recuperação de solos afetados por sais no Nordeste do Brasil pela aplicação de gesso de jazida e calcário. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 8, n. 1, p. 59-64, 2004.
- BASHAN, Y.; MORENO, M.; TROYO, E. Growth promotion of the seawater irrigated oilseed halophyte *Salicornia bigelovii* inoculated with mangrove rhizosphere bacteria and halotolerant *Azospirillum* spp. **Biol. Fertil. Soils**, v. 32, p. 265-272, 2000.
- BASKAR, B.; PRABAKARAN, P. Characterization of mangrove associated nitrogen fixing halophilic bacterium *Paenibacillus* sp. **International Journal of Current Research**, v. 3, p. 065-067, 2011.
- BERG, G. Plant microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 84, p. 11-8. 2009.
- BLUMWALD, E. Sodium transport and salt tolerance in plants. **Curr. Opin. Cell Biol.**, v. 12, p. 431-434, 2000.
- BOUKHATEM, Z. F.; DOMERGUE, O.; BEKKI, A.; MERABET, C.; SEKKOUR, S.; BOUAZZA, F.; GALIANA, A. Symbiotic characterization and diversity of rhizobia associated with native and introduced acacias in arid and semi-arid regions in Algeria. **FEMS microbiology ecology**, v. 80, n. 3, p. 534-547, 2012.
- BRECKLE, S. W. How do halophytes overcome salinity? **Biology of salt tolerant plants**, v. 23, p. 199-203, 1995.
- BUSSE, H. J.; WIESER, M. P. *Glutamicibacter*. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**. 2015.
- CACHORRO, P.; OLMOS, E.; ORTIZ, A.; CERDÁ, A. Salinity-induced changes in the structure and ultrastructure of bean root cells. **Biologia Plantarum**, v. 37, n. 2, p. 273-283, 1995.
- CALZADA, U. C.; ARVIZU, H. I.; CRUZ, M. J. A., RAMOS, L. M. A.; PEREZ, C.J., RIVERA, Z. R. L.; CAMPOS-GUILLEN, J. Identification by MALDI-TOF mass spectrometry of mercury-resistant bacteria associated with the rhizosphere of an apple orchard. **Geomicrobiology Journal**, v. 34, n. 2, p. 176-182, 2017.

CARVALHO, A. S. da R. **Restinga de Massambaba: vegetação, flora, propagação e usos**. Vertente Edições, Rio de Janeiro. 2018.

CARVALHO FILHO, A. de; LUMBRERAS, J. F.; DOS SANTOS, R. D. Os solos do Estado do Rio de Janeiro. **Embrapa Solos-Outras publicações científicas** (ALICE), 2000.

COMPANT S.; DUFFY B.; NOWAK J.; CLEMENT C.; EA BI. Use of plant growth-promoting bacterial for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. **Appl Environ Microbiol**, v. 71, p. 4951–4955, 2005.

CORDEIRO, G. G.; BARRETO, A. N.; CARVAJAL, A. C. N. Levantamento das condições de salinidade e sodicidade do Projeto de irrigação de São Gonçalo (2a parte). Petrolina: **EMBRAPA-CPATSA**, p. 57, 1988.

COSTA, C. S. B.; HERRERA, O. B. Halophytic life in Brazilian salt flats: Biodiversity, uses and threats. In: **Sabkha ecosystems**. Springer, Cham, p. 11-27, 2016.

CROSSAY, T.; ANTHEAUME, C.; REDECKER, D.; BON, L.; CHEDRI, N.; RICHERT, C.; AMIR, H. New method for the identification of arbuscular mycorrhizal fungi by proteomic-based biotyping of spores using MALDI-TOF-MS. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2017.

DA SILVA, L. H.; FEDER, F.; DE OLIVEIRA DELFINO, D.; DOS SANTOS LOPES, F. A. Análise da composição cianobacteriana das esteiras pustulares em salina, Araruama, Rio de Janeiro. **Anuário do Instituto de Geociências**, v.30, n. 1, p. 175-180, 2007.

DA SILVA, R. E.; SANTOS, S. N.; TAKETANI, R. G.; MELO, I. S. de. Rizobactérias halotolerantes/halofílicas isoladas de plantas halofílicas pioneiras de salinas do semiárido brasileiro. In: **Embrapa Meio Ambiente-Resumo em anais de congresso** (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 26., 2011, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2011. Resumo 1274-2., 2011.

DASSARMA, S.; ARORA, P. Genetic analysis of the gas vesicle gene cluster in haloarchaea. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.153, p.1–10, 1997.

DAVIN-REGLI, A.; LAVIGNE, J. P.; PAGÈS, J. M. *Enterobacter* spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 32, n. 4, p. e00002-19, 2019.

DENET, E.; VASSELON, V.; BURDIN, B.; NAZARET, S.; FAVRE-BONTÉ, S. Survival and growth of *Stenotrophomonas maltophilia* in free-living amoebae (FLA) and bacterial virulence properties. **PloS one**, v. 13, n. 2, 2018.

DESLANDES, R.S.; REGALLO, F.L.S.; MULLER, J.E.P. Mapeamento do uso e ocupação do solo atual pela atividade salina em praia seca, distrito de araruama, RJ. **X Seminário de Pesquisa da Estácio**. 2000.

DESALE, P.; PATEL, B.; SINGH, S.; MALHOTRA, A.; NAWANI, N. Plant growth promoting properties of *Halobacillus* sp. and *Halomonas* sp. in presence of salinity and heavy metals. **Journal of basic microbiology**, v. 54, n. 8, p. 781-791, 2014.

DIAS, N.S.; BLANCO F.F.; SOUZA E.R.; FERREIRA J.F.S.; NETO, O.N.S.; QUEIROZ, I.S.R. Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza, INCTSal. p.11-19, 2016.

DÍAZ-CÁRDENAS, C.; CANTILLO, A.; ROJAS, L. Y.; SANDOVAL, T.; FIORENTINO, S.; ROBLES, J.; BAENA, S. Microbial diversity of saline environments: searching for cytotoxic activities. **AMB Express**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2017.

DÖBEREINER, J.; ANDRADE, V. D. O.; BALDANI, V. L. D. Protocolos para preparo de meios de cultura da Embrapa Agrobiologia. Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E). 1999.

DODD, I. C.; PÉREZ-ALFOCEA, F. Microbial amelioration of crop salinity stress. *Journal of Experimental Botany*, v. 63, n. 9, p. 3415-3428, 2012.

DOLKAR, D.; DOLKAR, P.; ANGMO, S.; CHAURASIA, O. P.; STOB DAN, T. Stress tolerance and plant growth promotion potential of *Enterobacter ludwigii* PS1 isolated from Seabuckthorn rhizosphere. ***Biocatalysis and Agricultural Biotechnology***, v.14, p.438-443. 2018.

DRIDI B.; RAOULT D.; DRANCOURT M. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry identification of Archaea: towards the universal identification of living organisms. ***Apmis***, v. 120, n. 2, p. 85-91, 2012.

DÜRR, R.; NEUMANN, A.; VIELHAUER, O.; ALTENBUCHNER, J.; BURTON, S. G.; COWAN, D. A.; SYLDATK, C. Genes responsible for hydantoin degradation of a halophilic *Ochrobactrum* sp. G21 and *Delftia* sp. I24—New insight into relation of d-hydantoinases and dihydropyrimidinases. ***Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic***, v.52, p.2-12, 2008.

EGAMBERDIEVA D.; KAMILOVA F.; VALIDOV S.; GAFUROVA L.; KUCHAROVA Z.; LUGTENBERG B. High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. ***Environ Microbiol***, v.10, n. 1, p.1-9, 2008.

EGAMBERDIEVA, D.; WIRTH, S.; BELLINGRATH-KIMURA, S. D.; MISHRA, J.; ARORA, N. K. Salt-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for enhancing crop productivity of saline soils. ***Frontiers in microbiology***, v. 10, p. 2791, 2019.

EKKELENKAMP, M.B.; ROOIJAKKERS S.H.M.; BONTEN M.J.M. Chapter 165 - *Staphylococci* and *micrococci*, Editor(s): Jonathan Cohen, Steven M. Opal, William G. Powderly, ***Infectious Diseases (Third Edition)***, Mosby, Pages 1632-1644, ISBN 9780323045797, 2010.

ETESAMI, H. Can interaction between silicon and plant growth promoting rhizobacteria benefit in alleviating abiotic and biotic stresses in crop plants? ***Agriculture, Ecosystems & Environment***, v. 253, p. 98-112, 2018.

ETESAMI, H.; BEATTIE, G. A. Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 148, 2018.

ETESAMI, H.; HOSSEINI, H. M.; ALIKHANI, H. A.; MOHAMMADI, L. Bacterial biosynthesis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase and indole-3-acetic acid (IAA) as endophytic preferential selection traits by rice plant seedlings. **Journal of plant growth regulation**, v. 33, n. 3, p. 654-670, 2014.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution** **39**, p.783-791, 1985.

FENDRICH C. *Halovibrio variabilis* gen. nov. sp. nov., *Pseudomonas halophila* sp. nov. and a new halophilic aerobic coccoid eubacterium from Great Salt Lake, Utah, USA. **Syst Appl Microbiol** v.11, p.36–43, 1988.

FENG, W. W.; WANG, T. T.; BAI, J. L.; DING, P.; XING, K.; JIANG, J. H.; QIN, S. *Glutamicibacter halophytocola* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the roots of a coastal halophyte, *Limonium sinense*. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 67, n. 5, p.1120-1125, 2017.

FERGUSON, C. H.; COLOMA, J. M.; VALENTINE, M. C.; HAECKEL, F. J.; LININGTON, R. G. Development of a Custom MALDI-TOF Mass Spectrometric Database for Identification of Environmental Burkholderia and Related Genera. **Applied and Environmental Microbiology**, 2020.

FERNANDES, P.D.; BRITO, M.E.B.; GHEYI, H.R.; ANDRADE, A.P.; MEDEIROS, S.S. Halofitismo e agricultura brasileira. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza, INCTSal. p.11-19, 2016.

FERREIRA, M. J.; CUNHA, A.; FIGUEIREDO, S.; FAUSTINO, P.; PATINHA, C.; SILVA, H.; SIERRA-GARCIA, I. N. The Root Microbiome of *Salicornia ramosissima* as a Seedbank for Plant-Growth Promoting Halotolerant Bacteria. **Applied Sciences**, v. 11, n. 5, p. 2233, 2021.

FINKEL, O. M.; CASTRILLO, G.; PAREDES, S. H.; GONZÁLEZ, I. S.; DANGL, J. L. Understanding and exploiting plant beneficial microbes. **Current opinion in plant biology**, v. 38, p. 155-163, 2017.

FLOWERS, T.J.; COLMER, T.D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytologist** v.179, p.945- 963, 2008.

FLOWERS, T. J.; FLOWERS, S. A. Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? **Agricultural water management**, v. 78, n. 1-2, p. 15-24, 2005.

FLOWERS, T. J.; MUNNS, R.; COLMER, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany**, v.115, p.419–431, 2015.

GAO, M.; XIE, L. Q.; WANG, Y. X.; CHEN, J.; XU, J.; ZHANG, X. X.; SUN, J. G. *Paenibacillus beijingsensis* sp. nov., a novel nitrogen-fixing species isolated from jujube garden soil. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 104, n. 4, p. 689-694, 2012.

GLICK, B.R.; PENROSE, D.M.; LI, J. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. **J. Theoret. Biol.**, v. 190, p. 63-68, 1998.

GLICK, B.R.; CHENG, Z.; CZARNY, J.; DUAN, J. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. **Eur. J. Plant Pathol.** v.119, p.329–339, 2007.

GLICK, B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiol. Res.** v.169, p.30–39, 2014.

GOSWAMI, D.; PITHWA, S.; DHANDHUKIA, P.; THAKKER, J. N. Delineating *Kocuria turfanensis* 2M4 as a credible PGPR: a novel IAA-producing bacteria isolated from saline desert. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, n. 1, p. 566-576, 2014.

GUPTA, R. K.; ABROL, I. P. Sal-affected soils: their reclamations and management for crop production. **Advances in Soil Science**, v.11, p.223-288, 1990.

HADLICH, G. M.; UCHA, J. M.; CELINO, J. J. Apicuns na Baía de Todos os Santos: distribuição espacial, descrição e caracterização física e química. In: Queiroz, A. F. de S.; CELINO, J. J. (Org.). **Avaliação de ambientes na Baía de Todos os Santos: aspectos geoquímicos, geofísicos e biológicos**, cap. 2, p. 59-72. Salvador: UFBA 2008.

HALL, J.A.; PEIRSON, D.; GHOSH, S.; GLICK, B.R. Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR 12–2. **Isr J Plant Sci**, v. 44, p. 37–42, 1996.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In: Nucleic acids symposium series. [London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000., 1999. p.95-98

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; ALAM, M.M.; BHOWMIK, P.C.; HOSSAIN, M.A.; RAHMAN, M.M.; PRASAD, M.N.V.; OZTURK, M.; FUJITA, M. Potential use of halophytes to remediate saline soils. **Biomed. Res.** Int. 2014.

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Ann Microbiol** v.60, p.579–98. 2010.

HE, F. E. coli genomic DNA extraction. **Bio-protocol**, p. e97-e97, 2011.

HIGGINS, DESMOND G. CLUSTAL V: multiple alignment of DNA and protein sequences. In: **Computer analysis of sequence data**. Springer, Totowa, NJ. p.307-318, 1994.

HIMABINDU, Y.; CHAKRADHAR, T.; REDDY, M. C.; KANYGIN, A.; REDDING, K. E.; CHANDRASEKHAR, T. Salt-tolerant genes from halophytes are potential key players of salt tolerance in glycophytes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 124, p. 39-63, 2016.

HÖHN, A.; TOBSCHAL, H. J.; MADDOCK, J. E. L. Biogeochemistry of a hypersaline lagoon east of Rio de Janeiro, Brazil. **The Science of the total environment**. Amsterdam Elsevier Science, v.58, p.175-185, 1986.

HOLANDA, F. S. R.; MARCIANO, C. R.; PEDROTTI, A.; AGUIAR, J. F. de; SANTOS, V. P. Recuperação de áreas com problemas de salinização. **Informe Agropecuário, Belo Horizonte**, v.22, n.210, p.57-61, 2001.

HOLANDA, A. C.; SANTOS, R. V.; SOUTO, J. S.; ALVES, A. R. Desenvolvimento inicial de espécies arbóreas em ambientes degradados por sais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.7, n.1, p.39-50, 2007.

HONG, Y. Y.; MA, Y. C.; ZHOU, Y. G.; GAO, F.; LIU, H. C.; CHEN, S. F. *Paenibacillus sonchi* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from the rhizosphere of *Sonchus oleraceus*. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 59, n. 11, p. 2656-2661, 2009.

HORIE, T.; HAUSER, F.; SCHROEDER, J.I. HKT transporter-mediated salinity resistance mechanisms in *Arabidopsis* and monocot crop plants. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 12, p. 660-668, 2009.

HRENOVIC, J.; DURN, G.; GOIC-BARISIC, I.; KOVACIC, A. Occurrence of an environmental *Acinetobacter baumannii* strain similar to a clinical isolate in paleosol from Croatia. **Applied and environmental microbiology**, v. 80, n. 9, p. 2860–2866, 2014.

HUMM, H. J. Marine agar-digesting bacteria of the South Atlantic coast. **Duke Univ Mar Stn Bull** v.3, p.45–75, 1946.

HUSCHEK, D.; WITZEL, K. Rapid dereplication of microbial isolates using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: A mini-review. **J Adv Res**. v.2, n.19, p.99-104., 2019.

ISLAM, F.; Wang, J.; Farooq, M. A.; Gill, R. A.; Ali, S.; Zhou, W. Combined herbicide and saline stress differentially modulates hormonal regulation and antioxidant defense system in *Oryza sativa* cultivars. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 107, p. 82-95, 2016.

JHA, Y.; SUBRAMANIAN, R. B. PGPR regulate caspase-like activity, programmed cell death, and antioxidant enzyme activity in paddy under salinity. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 20, n. 2, p. 201-207, 2014.

JIANG, J.; PAN, Y.; HU, S.; ZHANG, X.; HU, B.; HUANG, H.; HONG, S.; MENG, J.; LI, C.; WANG, K. *Halomonas songnenensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from saline and alkaline soils. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** v.64, p.1662-1669, 2014.

JURINAK, J. J.; SUAREZ, D. L. The chemistry of salt-affected soils and waters. In: Tanji, K. K. (Ed.). **Agricultural Salinity Assessment and Management**. American Society of Civil Engineers. New York: p.42-63, 1990.

KÄMPF, N.; CURI, N. Formação e evolução do solo (Pedogênese). In: KER, J.C.; CURI, N.; SCHAEFER, C.E.G.R.; VIDAL-TORRADO, P. (Eds.). **Pedologia: fundamentos**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 273-276, 2012.

KANDI, V.; PALANGE, P.; VAISH, R.; BHATTI, A.B.; KALE, V.; KANDI, M.R.; BHOOMAGIRI, MR. Emerging Bacterial Infection: Identification and Clinical Significance of *Kocuria* Species. **Cureus**, v. 8, n. 8, 2016.

KARNWAL, A. Screening, isolation and characterization of culturable stress-tolerant bacterial endophytes associated with *Salicornia brachiata* and their effect on wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays*) growth. **Journal of Plant Protection Research**, p. 293-303, 2019.

KATERJI, N.; VAN HOORN, J.W.; HAMDY, A.; MASTRORILLI, M. Salt tolerance classification of crops according to soil salinity and to water stress day index. **Agric. Water Manage.** v.43, n. 1, p.99–109, 2000.

KHALIFA, A. Y.; ALSYEEH, A. M.; ALMALKI, M. A.; SALEH, F. A. Characterization of the plant growth promoting bacterium, *Enterobacter cloacae* MSR1, isolated from roots of non-nodulating *Medicago sativa*. *Saudi journal of biological sciences*, v.23, n. 1, p.79-86, 2016.

KHAN, M. A.; SAHILE, A. A.; JAN, R.; ASAF, S.; HAMAYUN, M.; IMRAN, M.; LEE, I. J. Halotolerant bacteria mitigate the effects of salinity stress on soybean growth by regulating secondary metabolites and molecular responses. **BMC plant biology**, v. 21, n. 1, p. 1-15, 2021.

KHAN, M. A., BOËR, B., ÖZTURK,, M., CLÜSENER-GODT, M., GUL, B., BRECKLE, S.-W. SABKHA. **Ecosystems: Vol. V: The Americas**. Springer. 2016.

KHATUN, S.; FLOWERS, T.J. Effects of salinity on seed set in rice. **Plant Cell Environment**, v. 18, p. 61–67, 1995.

KIM, KK; LEE, JS; STEVENS, DA. Microbiology and epidemiology of *Halomonas* species. *Future Microbiol.* **Erratum in: Future Microbiol.** 2014

KOYRO, H.W.; GEISSLER N.; HUSSIN S.; DEBEZ A.; HUCHZERMEYER B. Strategies of halophytes to survive in a salty environment. In: **Abiotic stress and plant responses**, ed. N. A. Khan and S. Singh, p.83–104. New Delhi: I.K. International, 2008.

KRADER, P.; EMERSON, D. Identification of Archaea and some Extremophilic Bacteria Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry. **Extremophiles: life under extreme conditions**. v.8, p.259-68. 2004.

KRISHNAMURTHY, P.; RANATHUNGE, K.; FRANKE, R.; PRAKASH, H. S.; SCHREIBER, L.; MATHEW, M. K. The role of root apoplastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). **Planta**, v. 230, n. 1, p. 119-134, 2009.

KUMAR S.; STECHER G.; PETERSON D.; TAMURA K. MEGA-CC: Computing core of molecular evolutionary genetics analysis program for automated and iterative data analysis. **Bioinformatics** v.28, p. 2685-2686, 2012.

KUMAR, P.; HUANG, C.; CAI, J.; MIKLAVCIC, S. J. Root phenotyping by root tip detection and classification through statistical learning. **Plant and soil**, v. 380, n. 1, p. 193-209, 2014.

KUMAR, A.; SINGH, S.; MUKHERJEE, A.; RASTOGI, R. P.; VERMA, J. P. Salt-tolerant plant growth-promoting *Bacillus pumilus* strain JPVS11 to enhance plant growth attributes of rice and improve soil health under salinity stress. **Microbiological Research**, v. 242, p. 126616, 2021.

KUMARI, A.; DAS, P.; PARIDA, A. K.; AGARWAL, P. K. Proteomics, metabolomics, and ionomics perspectives of salinity tolerance in halophytes. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 537, 2015.

LANE, D.J. 16S/23S rRNA sequencing. In: STACKEBRANDT, E; GOODFELLOW, M Nucleic acid techniques in bacterial systematics. p. 115–175. New York: Wiley, 1991.

LARSEN, H. Biochemical aspects of extreme halophilism. **Adv. Microb. Physiol.** v.1, p.97–132, 1967.

LE RUDULIER, D.; BOUILLARD, L. Glycine Betaine, an osmotic effector in *Klebsiella pneumoniae* and other members of the Enterobacteriaceae. **Appl. Environ. Microbiol.** v.46, p.152–159, 1983.

LEBUHN, M.; ACHOUAK, W.; SCHLOTTER, M.; BERGE, O.; MEIER, H., BARAKAT, M., HEULIN, T. Taxonomic characterization of *Ochrobactrum* sp. isolates from soil samples and wheat roots, and description of *Ochrobactrum tritici* sp. nov. and *Ochrobactrum grignonense* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, n. 6, p.2207-2223, 2000.

LEITE, M.C.B.S.; FARIAS A.R.B.; FREIRE F.J.; ANDREOTE F.D.; KUKLINSKY-SOBRAL J.; FREIRE M.B.G.S. Isolation, bioprospecting and diversity of salt-tolerant bacteria associated with sugarcane in soils of Pernambuco, Brazil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v.18, p.73–79, 2014.

LEROY, S.; VERMASSEN, A.; TALON, R. *Staphylococcus*: Occurrence and Properties, Editor(s): Benjamin Caballero, Paul M. Finglas, Fidel Toldrá, **Encyclopedia of Food and Health**. Academic Press, p. 140-145, 2016.

LINDGREN, A.R.; BUCKLEY, B.A.; EPPLEY, S.M.; REYSENBACH, A.-L.; STEDMAN, K.M.; WAGNER, J.T. Life on the edge-the biology of organisms inhabiting extreme environments: an Introduction to the symposium. **Integr. Comp. Biol.** v.56, p.493–499, 2017.

LISZKA, M.J.; CLARK, M.E.; SCHNEIDER, E.; CLARK, D.S. Nature Versus Nurture: Developing Enzymes That Function Under Extreme Conditions. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering.** v.3, n.1, p.77-102. 2012.

MA, F.; PETERSON, C. A. Current insights into the development, structure, and chemistry of the endodermis and exodermis of roots. **Canadian Journal of Botany**, v. 81, n. 5, p. 405-421, 2003.



MA, Y., XIA, Z.; LIU, X.; CHEN, S. *Paenibacillus sabiniae* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from the rhizosphere soils of shrubs. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, v. 57, n. 1, p. 6-11, 2007.

MA, Y. C.; CHEN, S. F. *Paenibacillus forsythiae* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from rhizosphere soil of *Forsythia mira*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, v. 58, n. 2, p. 319-323, 2008.

MACELROY, R.D. Some comments on the evolution of extremophiles. **Biosyst** v.6, p.74–5, 1974.

MAPELLI, F.; MARASCO, R.; ROLLI, E.; BARBATO, M.; CHERIF, H.; GUESMI, A.; OUZARI, I.; DAFFONCHIO, D.; BORIN, S. Potential for plant growth promotion of rhizobacteria associated with *Salicornia* growing in Tunisian hypersaline soils. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. **Plant Physiol. Biochem**, v.42, p.565–572., 2004.

MCPHERSON, M. R.; WANG, P.; MARSH, E. L.; MITCHELL, R. B.; SCHACHTMAN, D. P. Isolation and analysis of microbial communities in soil, rhizosphere, and roots in perennial grass experiments. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 137, p. e57932, 2018.

MISRA, S.; DIXIT, V. K.; KHAN, M. H.; MISHRA, S. K.; DVIWEDI, G.; YADAV, S.; CHAUHAN, P. S. Exploitation of agro-climatic environment for selection of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase producing salt tolerant indigenous plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological research**, v. 205, p. 25-34, 2017.

MONTEOLIVA-SANCHEZ, M.; A. RAMOS-CORMENZANA. Cellular fatty acid composition of *Planococcus halophilus* NRCC 14033 as affected by growth temperature and salt concentration. **Curr. Microbiol.** v.15, p.133–136, 1987.

MORITA RY. Extremes of biodiversity. **Bioscience** v.49, p.245–8, 1999.

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

MUNOZ, R.; LÓPEZ-LÓPEZ, A.; URDIAIN, M.; MOORE, E. R.; ROSSELLÓ-MÓRA, R. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight whole cell profiles for assessing the cultivable diversity of aerobic and moderately halophilic prokaryotes thriving in solar saltern sediments. **Systematic and applied microbiology**, v. 34, n. 1, p. 69-75, 2011.

MUKHTAR, S.; MALIK, K. A.; MEHNAZ, S. Osmoadaptation in halophilic bacteria and archaea. **Res. J. Biotech**, v. 15 n. 5, 2020.

NADEEM, S.M.; ZAHIR, Z.A.; NAVEED, M.; NAWAZ, S. Mitigation of salinity induced negative impact on the growth and yield of wheat by plant growth-promoting rhizobacteria in naturally saline conditions. **Ann Microbiol**, v. 63, n. 1, p. 225–232, 2013.

NAVARRO-TORRE, S.; BARCIA-PIEDRAS, J. M.; MATEOS-NARANJO, E.; REDONDO-GÓMEZ, S.; CAMACHO, M.; CAVIEDES, M. A.; RODRÍGUEZ-LLORENTE, I. D. Assessing the role of endophytic bacteria in the halophyte *Arthrocnemum macrostachyum* salt tolerance. **Plant Biology**, v. 19, n. 2, p. 249-256, 2017.

NYBROE, O.; SØRENSEN, J. Production of cyclic lipopeptides by fluorescent pseudomonads. In: *Pseudomonas*. Springer, Boston, MA, p. 147-172, 2004.

OREN, A. Bioenergetics aspects of halophilism. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** v.63, p.334-348,1999.

OREN, A. The bioenergetic basis for the metabolic diversity at increasing salt concentrations: Implication for the function in of salt lake ecosystems. *Hydrobiologia*. v.466. p.61-72, 2001.

OREN, A. Diversity of halophilic microorganisms: environments,phylogeny,physiology, and applications. *J. of Indust. Microbiol. & Biotechno.* v.28, p.56-63. 2002.

OREN, Aharon. **Halophilic microorganisms and their environments**. Springer Science & Business Media, 2006.

OREN, A. Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. **Saline systems**, v.4, n. 1, p. 1-13, 2008.

OREN, A. Thermodynamic limits to microbial life at high salt concentrations. **Environmental microbiology**, v. 13, n. 8, p. 1908-1923, 2011.

OREN, A. Life at high salt concentrations, intracellular KCl concentrations, and acidic proteomes. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 315, 2013.

ORHAN, F. Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). **brazilian journal of microbiology**, v. 47, p. 621-627, 2016.

OZAWA, T., WU, J.; FUJII, S. Effect of inoculation with a strain of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* isolated from the endorhizosphere of *Salicornia europaea* on salt tolerance of the glasswort. **Soil Sci. Plant Nutr.**, v. 53, p. 12-16, 2007.

PEREIRA, J.R. Solos salinos e sódicos. In: **Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo**, 15. Campinas. Acidez e calagem no Brasil. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1983, p.129-143, 1982.

PALLERONI N. J. Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894, 237<sup>AL</sup>. In: **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2nd edn., v.2, part B, p.323–379.New York: Springer. 2005.

PELLEGRINI, J. A. C. **Caracterização da planície hipersalina (Apicum) associada a um bosque de mangue em Guaratiba, Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro - RJ**. 2000. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

PRIMO, P.B.S.; BIZERRIL, C.R.S.F. Lagoa de Araruama. Perfil ambiental do maior ecossistema lagunar hipersalino do mundo. 1a ed. Rio de Janeiro, **SEMADS**, p. 264, 2002.

PRISCO, J.T.; FILHO, E.G. MIRANDA, R.S. Physiology and biochemistry of plants growing under salt stress. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza, INCTSal. p.11-19, 2016.

QADIR, M.; OSTER, J. D. Vegetative bioremediation of calcareous sodic soils: History, mechanisms, and evaluation. **Irrig. Sci.** v.21, p.91–101, 2002.

QADIR, M.; OSTER, J. D.; SCHUBERT, S.; NOBLE, A. D.; SAHRAWAT, K. L. Phytoremediations of sodic and salinesodic soils. **Adv. Agron.**, v.96, p.197-247, 2007.

QUESADA, E.; VENTOSA, A. RODRIGUEZ-VALERAF; RAMOS-CORMENZANAA. Types and properties of some bacteria isolated from hypersaline soils. **Journal of Applied Bacteriology** v.53, p.155-161. 1982.

QIN, S.; FENG, W. W.; ZHANG, Y. J.; WANG, T. T.; XIONG, Y. W.; XING, K. Diversity of bacterial microbiota of coastal halophyte *Limonium sinense* and amelioration of salinity stress damage by symbiotic plant growth-promoting actinobacterium *Glutamicibacter halophytocola* KLBMP 5180. **Applied and environmental microbiology**, v. 84, n. 19, p. e01533-18, 2018.

QIN, Y.; DRUZHININA, I. S.; PAN, X.; YUAN, Z. Microbially mediated plant salt tolerance and microbiome-based solutions for saline agriculture. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 7, p. 1245-1259, 2016.

RAHI, PRAVEEN; PRAKASH, OM; SHOUCHE, YOGESH S. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry (MALDI-TOF MS) based microbial identifications: challenges and scopes for microbial ecologists. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p.1359, 2016.

RAGHAVAN, C.; ONG, E. K.; DALLING, M. J.; STEVENSON, T. W. Regulation of genes associated with auxin, ethylene and ABA pathways by 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid in Arabidopsis. **Functional & integrative genomics**, v. 6, n. 1, p. 60-70, 2006.

RAPOSO, D.; CLEMENTE, I.; FIGUEIREDO, M.; VILAR, A.; LORINI, M. L.; FRONTALINI, F.; LAUT, L. Benthic foraminiferal and organic matter compounds as proxies of environmental quality in a tropical coastal lagoon: the Itaipu lagoon (Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 129, n. 1, p. 114-125. 2018.

RAVINE, T.J. *Bacillus*: An Environmental Contaminant or Misunderstood Pathogen? **J Bacteriol Mycol.**; v. 6 n. 6, p. 1117. 2019.

RYAN, M. P.; PEMBROKE, J. T. The genus *Ochrobactrum* as major opportunistic pathogens. **Microorganisms**, v. 8, n. 11, p. 1797, 2020.

RAZZAGHI, K. B.; ALIKHANI, H.A.; ETESAMI, H.; KHOSHKHOLGH-SIMA, N.A. Improved growth and salinity tolerance of the halophyte *Salicornia* sp. by co-inoculation with endophytic and rhizosphere bacteria. **Appl Soil Ecol** v.138, p.160–170. 2019.

RIBEIRO, M. R. Origem e Classificação dos Solos Afetados por Sais. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.). **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza, INCTSal. p.11-19, 2016.

RICHARDS. USSL STAFF - United States Salinity Laboratory Staff. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. Washington: U.S. 160p. Handbook 60. Department of Agriculture, 1954.

RIVERO, M.; ALONSO, J.; RAMÓN, M.F. Infections due to *Cellulosimicrobium* species: case report and literature review. **BMC Infect Dis** v. 19, p. 816, 2019.

ROBBINS, C. W. Sodic calcareous soil reclamation as affected by different amendments and crops. **Agron. J.**, v.78, p.916–920, 1986.

ROOHI, A.; AHMED, I.; IQBAL, M.; JAMIL, M. Preliminary isolation and characterization of halotolerant and halophilic bacteria from salt mines of Karak, Pakistan. **Pak J Bot**, v.44, n. 1, p.365-370, 2012.

ROTHSCHILD LJ, MANCINELLI RL. Life in extreme environments. **Nature**, v.409, p.1092–101, 2001.

RUPPEL, S., FRANKEN, P., AND WITZEL, K. Properties of the halophyte microbiome and their implications for plant salt tolerance. **Funct. Plant Biol.**, v. 40, p. 940–951, 2013.

RUSSELL, N. J. Adaptive modifications in membranes of halotolerant and halophilic microorganisms. **J. Bioenerg. Biomembr.** v.21, p.93–113, 1989.

RYAN, M.P.; PEMBROKE, J.T. The Genus *Ochrobactrum* as Major Opportunistic Pathogens. **Microorganisms**, v. 8, n. 11, p. 1797, 2020.

RYU, H.; CHO, Y. G. Plant hormones in salt stress tolerance. **Journal of Plant Biology**, v. 58, n 3, p. 147-155, 2015.

SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v.49, p.643–668, 1998.

SANCHEZ-PORRO, C.; RAFAEL, R.; SOTO-RAMIREZ, N.; MÁRQUEZ, M. C.; MONTALVO-RODRIGUEZ, R.; VENTOSA, A. Description of *Kushneria aurantia* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Halomonadaceae, and a proposal for reclassification of *Halomonas marisflavi* as *Kushneria marisflavi* comb. nov., of *Halomonas indalinina* as *Kushneria indalinina* comb. nov. and of *Halomonas avicenniae* as *Kushneria avicenniae* comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. 2, p. 397-405, 2009.

SANDHYA, M. V. S. E.; DIVYA, P.; KUMAR, A. P.; KARTHIK, R.; YAZEIN, E. Isolation of antibiotic producing bacteria from soil. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 1, n. 6, p. 46-51, 2012.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R., ALMEIDA, J. A. de; ARAUJO FILHO, J. C. de; OLIVEIRA, J. B. de; CUNHA, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SANTOS, R.G.; HURTADO, R.; GOMES, L.G.R.; PROFETA, R.; RIFICI, C.; ATTILI, A.R.; SPIER, S.J.; MAZZULLO, G.; MORAIS-RODRIGUES, F.; GOMIDE, A.C.P.; BRENIG, B.; GALA-GARCÍA, A.; CUTERI, V.; CASTRO, T.L.P.; GHOSH, P.; SEYFFERT, N.; AZEVEDO, V. Complete genome analysis of *Glutamicibacter creatinolyticus* from mare abscess and comparative genomics provide insight of diversity and adaptation for *Glutamicibacter*. **Gene**, v. 741, p. 144566, 2020.

SANTOS, H.; DA COSTA, M.S. Compatible solutes of organisms that live in hot saline environments. **Environ. Microbiolo.**, v.4, p.501 –509, 2002.

SARKAR, A.; GHOSH, P. K.; PRAMANIK, K.; MITRA, S.; SOREN, T.; PANDEY, S.; MAITI, T. K. A halotolerant Enterobacter sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress. *Research in microbiology*, v. 169, n. 1, p. 20-32, 2018.

SAXENA, S. C.; KAUR, H.; VERMA P.; PETLA, B. P.; ANDUGULA, V. R.; MAJEE, M. Osmoprotectants: potential for crop improvement under adverse conditions. In: Tuteja, N.; Gill, S. S. (ed.) **Plant acclimation to environmental stress**. New York: Springer. p.197-232, 2013.

SAXENA, ANIL; MURUGAN, KUMAR; CHAKDAR, HILLOL; ANUROOPA, N; BAGYARAJ, D. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. **Journal of Applied Microbiology.**, v. 128, n. 6, p. 1583-1594, 2020.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRÓN-MOLERO, G.; SOARES, M. L. G.; DE-ROSA, M. T. Brazilian mangroves. **Aquatic Ecosystem Health and Manegement**, v.3, p.561-570, 2000.

SHAHAROONA, B.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z. Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) grown under axenic conditions and on nodulation in mungbean (*Vigna radiata* L.). **Letters in applied microbiology.**, v. 42, p.155-9, 2006.

SHAHID, S.A.; ZAMAN, M.; HENG, L. Soil Salinity: Historical Perspectives and a World Overview of the Problem. In **Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques**; Springer: Cham, Switzerland. p. 43–53, 2018.

SHAHID, M.; AHMED, T.; NOMAN, M.; JAVED, M. T.; JAVED, M. R.; TAHIR, M.; SHAH, S. M. Non-pathogenic Staphylococcus strains augmented the maize growth through oxidative stress management and nutrient supply under induced salt stress. **Annals of Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 727-739, 2019.

SHARMA, S.; KULKARNI, J.; JHA, B. Halotolerant rhizobacteria promote growth and enhance salinity tolerance in peanut. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1600, 2016.

SHIH, C. J.; CHEN, S. C.; WENG, C. Y.; LAI, M. C.; YANG, Y. L. Rapid identification of haloarchaea and methanoarchaea using the matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. **Scientific reports**, v.5, n. 1, p.1-11, 2015.

SHI, H. Z.; ISHITANI, M.; KIM, C. The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 97 n. 12, p. 6896-6901, 2000.

SHI, W.; TAKANO, T.; LIU, S. Isolation and characterization of novel bacterial taxa from extreme alkali-saline soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 2147-2157, 2012.

SILVA, M.A.M; SANTOS, C.L. Halitas das Salinas de Cabo Frio: reconhecimento das morfologias como subsídios para o entendimento das halitas pretéritas. **Boletim de Geociências da Petrobrás**, v.11, p.74-83, 1997.

SINGHAL, N.; KUMAR, M.; KANAUIA, P. K.; VIRDI, J. S. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. **Frontiers in microbiology**, v.6, p.791, 2015.

SINGH, M.; KUMAR, J.; SINGH, S.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 14, n. 3, p. 407-426, 2015.

SINGH, P.; JAIN, K.; DESAI, C.; TIWARI, O.; MADAMWAR, D. "Microbial community dynamics of extremophiles/extreme environment". **Microbial Diversity in the Genomic Era**, eds S. Das and H. R. Dash (San Dieg, CA: Academic Press), p.323–332, 2019.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, v. 28, n. 4, p. 1057-1060, 1989.

SOARES, M. L. G. Estrutura vegetal e grau de perturbação dos manguezais da Lagoa da Tijuca, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, p. 503-515, 1999.

SORTY, A. M.; MEENA, K. K.; CHOUDHARY, K.; BITLA, U. M.; MINHAS, P. S.; KRISHNANI, K. K. Effect of plant growth promoting bacteria associated with halophytic weed (*Psoralea corylifolia* L) on germination and seedling growth of wheat under saline conditions. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 180, n.5, p. 872-882, 2016.

STEUDLE, E.; PETERSON, C. A. How does water get through roots? **Journal of experimental Botany**, v. 49, n. 322, p. 775-788, 1998.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J. Auxin and Plant-Microbe Interactions. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**. v. 3, n. 4, p. a001438, 2011.

SPARK, D. The chemistry of saline and sodic soils. In: **Environmental Soil Chemistry**. 2nd ed. Academic Press. London, 2003.

STREJCEK, M.; SMRHOVA, T.; JUNKOVA, P.; UHLIK, O. Whole-cell MALDI-TOF MS versus 16S rRNA gene analysis for identification and dereplication of recurrent bacterial isolates. **Frontiers in microbiology**, v.9, p.1294, 2018.

SULTANA, S.; PAUL, S.C.; PARVEEN, S.; ALAM, S.; RAHMAN, N.; JANNAT, B.; KARIM, M.M. Isolation and identification of salt-tolerant plant-growth-promoting rhizobacteria and their application for rice cultivation under salt stress. **Canadian journal of microbiology**, v. 66, n. 2, p. 144-160,2020.

SUN, JI-QUAN; XU, LIAN; WU, XIAO-LEI. *Lysinibacillus alkalisoli* sp. Nov., isolated from saline-alkaline soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 2016.

SUTTON, G. C.; RUSSELL N. J.; QUINN P. J. The effect of salinity on the phase behaviour of total lipid extracts and binary mixtures of the major phospholipids isolated from moderately halophilic eubacterium. **Biochim. Biophys. Acta** v.1061, p.235–246, 1991.

SZABOLCS, I. **Review of research on salt affected soils**. Paris: UNESCO. p.137, 1979.

SZYMAŃSKA, S.; PŁOCINICZAK, T.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; ZŁOCH, M.; RUPPEL, S.; HRYNKIEWICZ, K. Metabolic potential and community structure of endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Aster tripolium* L. **Microbiological research**, v.182, p.68-79, 2016.

TAN, K.Z; RADZIAH O.; HALIMI, M.S.; KHAIRUDDIN, A.R.; HABIB, S.H.; SHAMSUDDIN, Z.H. Isolation and characterization of rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on growth of rice seedlings. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 9, n. 3, p. 342-360, 2014.

TANJI, K.K. The nature and extent of agricultural salinity problems. In: TANJI K.K. (ed.), **Agricultural salinity assessment and management**. ASCE Manual Reports on Engineering Practices, v.71, p.1–41, 1990.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. Manual de métodos de análise de solo. **Brasília: Embrapa**, p. 573, 2017.

TITO, T. M., RODRIGUES, N. D. M. B., COELHO, S. M. O., SOUZA, M. M. S., ZONTA, E.; COELHO, I. S. Choice of DNA extraction protocols from Gram negative and positive bacteria and directly from the soil. **Afr J Microbiol Res**, v. 9, n. 12, p.863-871, 2015.

TÜRKAN, I.; DEMIRAL, T. Recent developments in understanding salinity tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 1, p. 2-9, 2009.

UHLIK, O.; STREJCEK, M.; JUNKOVA, P.; SANDA, M.; HROUDOVA, M.; VLCEK, C.; MACEK, T. Matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI)-time of flight mass spectrometry-and MALDI biotyper-based identification of cultured biphenyl-metabolizing bacteria from contaminated horseradish rhizosphere soil. **Applied and environmental microbiology**, v.77, n. 19, p. 6858-6866, 2011.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINE, B.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 356, 2013.

VENTOSA, A.; NIETO, J.J.; OREN, A. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 62, p.504-544, 1998.

VENTOSA, A.; ARAHAL, D.R. Halophily (halophilism and halophilic microorganisms). In: Gerday C, Glansdorff N (eds) **Extremophiles**. EOLSS, Oxford, United Kingdom. 2009.

VENTOSA A.; MELLADO E.; SANCHEZ-PORRO C.; MARQUEZ M.C. Halophilic and Halotolerant Micro-Organisms from Soils. In: Dion P., Nautiyal C.S. (eds) **Microbiology of Extreme Soils**. Soil Biology, vol 13. Springer, Berlin, Heidelberg. 2008.

VREELAND, R. H. Mechanisms of halotolerance in microorganisms. **Crit. Rev. Microbiol.** v.14, p.311–356, 1987.

WANG, M.; XIA, G. The landscape of molecular mechanisms for salt tolerance in wheat. **The Crop Journal**, v. 6, n. 1, p. 42-47, 2018.

WEISBURG, W. G.; BARNES, S. M.; PELLETIER, D. A.; LANE, D. J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal of bacteriology**, v. 173, n. 2, p. 697-703, 1991.

WEIHUI, W.; YONGXIN J.; FANG, B.; SHOUGUANG, J. Chapter 41 - *Pseudomonas aeruginosa*, Editor(s): Yi-Wei T.; Max S.; Dongyou L.; Ian P.; Joseph S. **Molecular Medical Microbiology (Second Edition)**, Academic Press, p. 753-767, 2016.

WIJEWARDANA, C.; HOCK, M.; HENRY, B.; REDDY, K. R. Screening corn hybrids for cold tolerance using morphological traits for early-season seeding. **Crop Science**, v. 55, n. 2, p. 851-867, 2015.

XIE, J. B.; ZHANG, L. H.; ZHOU, Y. G.; LIU, H. C.; CHEN, S. F. *Paenibacillus taohuashanense* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from rhizosphere soil of the root of *Caragana kansuensis* Pojark. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 102, n. 4, p. 735-741, 2012.

YAMAGUCHI, T.; HAMAMOTO, S.; UOZUMI, N. Sodium transport system in plant cells. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 410, 2013.

YEOMANS, J. C.; BREMNER, J. M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 19, n. 13, p. 1467-1476, 1988.

YOON, J. H., KANG, S. J., LEE, J. S., & OH, T. K. *Brevundimonas terrae* sp. nov., isolated from an alkaline soil in Korea. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 56, n. 12, p. 2915-2919, 2006.

YOON, J. H.; KANG, S. J.; SCHUMANN, P.; OH, T. K. *Cellulosimicrobium terreum* sp. nov., isolated from soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 11, p. 2493-2497, 2007.



YUAN, F.; LYU, M. J. A.; LENG, B. Y.; ZHENG, G. Y.; FENG, Z. T.; LI, P. H.; WANG, B. S. Comparative transcriptome analysis of developmental stages of the *L. imonium* bicolor leaf generates insights into salt gland differentiation. **Plant, cell & environment**, v. 38, n. 8, p. 1637-1657, 2015.

YUAN, F.; LENG, B.; WANG, B. Progress in studying salt secretion from the salt glands in recretohalophytes: how do plants secrete salt? **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 977, 2016.

ZAFRILLA, B.; MARTÍNEZ-ESPINOSA, R.M.; ALONSO, M.A.; BONETE, M.J. Biodiversity of Archaea and floral of two inland saltern ecosystems in the Alto Vinalopó Valley, Spain. **Saline Syst.** v.13, n.6, p.10, 2010.

ZHAO, S.; ZHOU, N.; ZHAO, Z. Y.; ZHANG, K.; WU, G. H.; TIAN, C. Y. Isolation of endophytic plant growth-promoting bacteria associated with the halophyte *Salicornia europaea* and evaluation of their promoting activity under salt stress. **Current microbiology**, v. 73, n. 4, p. 574-581, 2016.

ZONTA, E.; BRASIL, F.; ROCHA, J.; SANTOS, L.; MARTINS FERREIRA, L.; TAVARES, O.; PIMENTEL, R.; ROSSIELLO, R.; GOI, S. O sistema radicular e suas interações com o ambiente edáfico. In book: **NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS** (pp.47-123) Publisher: SOCIEDADE BRASILEIRA DE CICÊNCIA DO SOLO. 2018.